

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA



“ASIMILACIÓN DE NITRÓGENO AMONIAICAL BAJO DOS
ESTRATEGIAS DE ADICIÓN DE CARBONO EN SISTEMAS BIOFLOC
PARA CULTIVO DE TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)”

Presentado por:

GIANELA MEDALITH BERNUY CHÁVEZ

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERO PESQUERO

Lima – Perú

2016

DEDICATORIA

A Dios

Por no desampararme, por darme paciencia y fortaleza siempre; especialmente durante este proyecto.

A mi madre Ana,

A quien le debo todo lo que soy. Gracias mamá, sin tu apoyo y amor no podría haber iniciado y mucho menos terminado esta tesis.

A mi abuelo Crisanto,

Aunque ya no estas físicamente con nosotros, tus enseñanzas y los valores inculcados me permiten lograr los objetivos que me propongo. Gracias papá Crisanto.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesoras de tesis Ing. Elsa vega y M. Eng. María Miglio por la confianza depositada en mí, apoyo, consejos y enseñanza durante todo este tiempo.

A mis profesoras Mg. Sc. Jessie Vargas y Mg. Sc Beatriz Ángeles, por su apoyo y buenos deseos.

A mis padres Ana y Orlando por su apoyo, paciencia y comprensión en los días importantes que no pude acompañarlos.

A mi amiga compañera de tesis Priscilla, de quien aprendí mucho, gracias por hacer que los momentos difíciles fueran superables y los felices fueran aún más gratificantes.

A Sandra, Milagros, Alejandra, Jairo, Renzo, Roberto; todos parte importante del desarrollo del experimento, gracias por el compromiso, apoyo y buenos momentos.

A los técnicos Sr. Víctor Meneses, Sr. Cusimanco, Wilfer y Raquel por su apoyo y creatividad durante el experimento.

A mis amigas Kathy y Mirian por su compañía, apoyo moral y buenas vibras.

A la Lic. Ana Alvariño, por brindarme información y guía en la estructura del documento.

Agradecimiento especial a la UNALM por el financiamiento brindado al proyecto “Evaluación de la comunidad del biofloc (BF) y su aporte nutricional en un cultivo experimental de juveniles de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* bajo un sistema intensivo con cero recambio de agua”, dentro del cual se desarrolló la presente investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	188
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Sistemas BFT	3
2.1.1. Control del nitrógeno inorgánico en sistema BFT	4
2.1.2. Manejo del sistema BFT	8
2.2. Requerimientos de calidad de agua y nutricional para tilapia	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Etapa pre experimental	17
3.1.1. Preparación y mantenimiento de bioreactores biofloc	1788
3.1.2. Material biológico y acondicionamiento de las unidades experimentales	219
3.1.3. Establecimiento de la hora de toma de muestras de agua	22
3.1.4. Diseño experimental	22
3.2. Etapa experimental	23
3.2.1. Siembra de alevines	23
3.2.2. Alimentación de los alevines	24
3.2.3. Medición de parámetros de calidad del agua	24
3.2.4. Manejo del sistema	26
3.2.5. Evaluación del crecimiento y supervivencia	28
3.2.6. Procesamiento y análisis de datos	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	30
4.1. Parámetros físicos y químicos de calidad de agua durante la etapa ----- experimental	30
a) Oxígeno disuelto (OD)	32
b) Temperatura	35
c) pH	37
d) Luminosidad	40
e) Sólidos sedimentables (SS), sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV) y turbidez	42

	Pág.
4.2. Asimilación y conversión del NAT	46
4.2.1. NAT y amoniaco.....	46
4.2.2. Nitritos y nitratos	50
4.3. Crecimiento y supervivencia	57
V. CONCLUSIONES.....	60
VI. RECOMENDACIONES.....	62
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	63
VIII. ANEXOS	75

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Niveles de oxígeno, amoníaco, temperatura y pH en el cultivo de tilapia	15
Tabla 2: Requerimiento de proteína para tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	16
Tabla 3: Equipos y frecuencia de medición de parámetros físicos y químicos (Etapa pre experimental).....	18
Tabla 4: Características de los tratamientos	22
Tabla 5: Composición químico proximal de las dietas experimentales	24
Tabla 6: Equipos y frecuencia de medición de parámetros físicos y químicos (Etapa experimental).....	25
Tabla 7: Frecuencia y métodos de medición de nitrógeno inorgánico disuelto	26
Tabla 8: Parámetros físicos y químicos del agua	30
Tabla 9: Concentraciones promedio de OD (mg/l) registrado a las 5 p.m. y resultados de la prueba laTukey.....	32
Tabla 10: Valores promedio del pH registrado a la 1 p.m. y resultados de la prueba Tukey.....	37
Tabla 11: Concentración promedio de NAT, amoníaco (mg/l) y resultados de prueba ANOVA MR (Factor tratamiento)	46
Tabla 12: Valores promedio y rangos semanales de la concentración NAT (mg/l).....	47
Tabla 13: Concentración promedio de nitritos y nitratos (mg/l) y resultado de prueba ANOVA MR (Factor tratamiento)	50
Tabla 14: Valores promedio y rangos semanales de la concentración de nitratos (mg/l)	51
Tabla 15. Parámetros de crecimiento de alevines de tilapia del Nilo durante la etapa experimental	57

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Ciclo del nitrógeno en estanques acuícolas con largo tiempo de residencia.....	6
Figura 2: Ciclo del nitrógeno en tanques con tecnología biofloc.....	6
Figura 3: Diseño de una cámara de sedimentación	12
Figura 4: Distribución aleatoria de los tratamientos.....	23
Figura 5: Variación de la concentración promedio semanal de OD (mg/L) del agua durante la fase experimental.....	33
Figura 6: Variación de la temperatura promedio semanal (°C) del agua durante la fase experimental	35
Figura 7: Variación del pH promedio semanal del agua durante la la fase experimental	38
Figura 8: Variación de la luminosidad promedio (Klux) en la superficie del agua durante la fase experimental.....	40
Figura 9: Variación de la concentración promedio de SS, SST, SSV y turbidez durante la fase experimental.....	43
Figura 10: Diagrama de cajas de la concentración de NAT y amoniacó (mg/L) en los tratamientos (T1, T2 y T3) durante la fase experimntal	48
Figura 11: Diagrama de cajas de concentración nitritos y nitratos (mg/L) en los tratamientos (T1, T2 y T3) durante la fase experimental	52
Figura 12: (a) Coloración inicial del agua en las unidades experimentales y (b) Coloración verdosa presente en algunas semanas	54

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1: Bioreactor con biofloc estabilizado.	75 ³⁸
Anexo 2: Acondicionamiento de tanques de concreto	75 ³⁸
Anexo 3: Siembra de alevines en sistema BFT.	76 ³⁸
Anexo 4: Medición de sólidos sedimentables en los tres tratamientos.	76 ³⁸
Anexo 5: Medición diaria de la alcalinidad; (a) Preparación de muestras a titular, (b) Titulación de muestra de agua y (c) Viraje de color de la muestra.	77 ³⁸
Anexo 6: Reactivos y materiales usados para el Método Nessler (HACH 8038).	77 ³⁸
Anexo 7: Preparación de las muestras de agua para medir NAT en el ----- espectrofotómetro.	78 ³⁸
Anexo 8: Adición de melaza a las unidades experimentales.	78 ³⁸
Anexo 9: Porcentaje de amoníaco (%) en función de la temperatura y pH.	79 ³⁸
Anexo 10: Tabla de cantidades de bicarbonato de sodio (g) para incrementar la-- alcalinidad del agua	80
Anexo 11: Resultados de prueba ANOVA MR para la concentración de oxígeno.	81
Anexo 12: Resultados de prueba ANOVA MR para la temperatura.	82
Anexo 13: Resultados de prueba ANOVA MR para el pH.	84
Anexo 14: Resultados de prueba ANOVA MR para la luminosidad	85
Anexo 15: Resultados de la prueba H de Kruskal Wallis para los sólidos sedimentables.	87
Anexo 16: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para la turbidez.	87
Anexo 17: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para los sólidos suspendidos volátiles (SSV)	88
Anexo 18: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para la concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT).	88
Anexo 19: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para la concentración de nitritos (N-NO ₂)	89
Anexo 20: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para la concentración de nitratos (N-NO ₃).	89
Anexo 21: Resultados de la prueba ANOVA de un factor para la Ganancia de biomasa (GB)	90
Anexo 22: Resultados de la prueba H de Kruskal Wallis para la Supervivencia	90

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la asimilación del NAT bajo dos estrategias de adición de carbono en sistemas biofloc para el cultivo de alevines de tilapia en un invernadero durante 55 días. La primera estrategia consistió en la adición de carbono como parte del alimento formulado (30 por ciento de proteína), de relación C/N 10.8 (T1). En la segunda estrategia se adicionó melaza al agua del sistema para complementar el carbono del alimento (35 por ciento y 40 por ciento de proteína en T2 y T3 respectivamente), hasta alcanzar la relación C/N de 10.8. Se sembraron 150 alevines (0.8 ± 0.2 g de peso promedio) en cada uno de los nueve tanques, tres para cada tratamiento, con 350 L de biofloc. Durante toda la experimentación se mantuvieron niveles adecuados de oxígeno (6.72 ± 0.34 mg/L), pH (7.74 ± 0.10), alcalinidad (75-100 mg CaCO₃/L) y temperatura (28.26 ± 0.65 °C) para el sistema BFT y el cultivo de tilapia. Los nitritos (N-NO₂), nitratos (N-NO₃) y NAT; 0.09 mg/L, 88.26 mg/L y 1.99 mg/L respectivamente, se mantuvieron estables y en concentraciones que no afectaron a la tilapia. Solo se presentaron diferencias significativas en la concentración de NAT entre tratamientos, siendo mayor en T3 (2.23 ± 0.41 mg/L) en comparación a T1 (1.8 ± 0.44 mg/L). Por otro lado el crecimiento de los peces fue afectado directamente por el porcentaje de proteína del alimento usado en cada tratamiento, alcanzando mayor biomasa en el T3 (778.7 ± 63.2 g) y la menor en T1 (507.8 ± 18.2 g). El usar la proporción C/N del alimento (30 por ciento) resultó ser adecuado para controlar los niveles de NAT y evitar gastos por la compra de fuentes de carbono adicionales como la melaza.

Palabras clave: Bioflocs, Relación Carbono/Nitrógeno, Control de nitrógeno inorgánico, tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus*.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the assimilation of TAN under two strategies of carbon supply in biofloc systems for the culture of fry tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a greenhouse for 55 days. The first strategy consisted in the adding of carbon as part of formulated feed (30 percent of protein), with a C/N ratio of 10.8 (T1). In the second strategy, molasses was added to the system to complement the feed carbon (35 percent and 40 percent of protein in T2 and T3 respectively) to reach the C/N ratio of 10.8. One hundred and fifty fingerlings (0.8 ± 0.2 g average weight) were stocked in each of the nine tanks, three for each treatment, with 350 L of biofloc. Throughout the experimentation, adequate levels of oxygen (6.72 ± 0.34 mg/L), pH (7.74 ± 0.10), alkalinity (75-100 mg CaCO₃/L) and temperature (28.26 ± 0.65 °C) for the BFT system and tilapia culture were maintained. Nitrites (N-NO₂), nitrates (N-NO₃) and TAN; 0.09 mg/L, 88.26 mg/L and 1.99 mg/L respectively, remained stable and in concentrations that not affected tilapia. Only significant differences occurred in the concentration of TAN between treatments, being higher in T3 (2.23 ± 0.41 mg / L) compared to T1 (1.8 ± 0.44 mg / L). On the other hand the growth of fish was directly affected by the percentage of protein feed used in each treatment, reaching the highest biomass in the T3 (778.7 ± 63.2 g) and the lowest in T1 (507.8 ± 18.2 g). Using the C/N ratio of the feed (30 percent) turned out to be suitable to control the levels of TAN and avoid expenses by purchasing of additional carbon sources such as molasses.

Key words: bioflocs, carbon / nitrogen ratio, inorganic nitrogen control, Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*.

I. INTRODUCCIÓN

La disminución de la pesca pone de manifiesto un incremento de la demanda de pescado debido al aumento en el consumo per cápita y el crecimiento de la población. La industria acuícola tiene la responsabilidad de incrementar la oferta de pescado (Avnimelech 2012). Sin embargo el desarrollo de la actividad acuícola enfrenta tres grandes limitaciones; la escasez de agua, la liberación de efluentes contaminados en el medio ambiente y por último el brote de enfermedades infecciosas que conduce a implementar medidas de bioseguridad más rigurosas como disminuir las tasas de intercambio de agua (Thompson *et al.* 2002).

En este sentido es importante fomentar el cultivo de las principales especies acuícolas a nivel mundial, mediante nuevos sistemas que permitan superar estos limitantes. La tecnología bioflocs en acuicultura (BFT por sus siglas en Inglés) se difundió como una solución a este problema. El principio básico de este sistema es el reciclaje de nutrientes al mantener una alta relación Carbono/Nitrógeno (C/N) en el agua a fin de estimular el crecimiento de bacterias heterotróficas que convierten el amoniaco en biomasa microbiana, en un sistema de limitado o cero recambio de agua (Avnimelech 1999).

Esta biomasa microbiana se unirá a otros microorganismos y partículas suspendidas en el agua, formando lo que ha sido llamado “bioflocs”; lo cual puede ser consumido eventualmente in situ por los animales cultivados o cosechado como un ingrediente alimenticio (Widanarni 2012).

La alta relación C/N, en un rango entre 10 a 20, es normalmente mantenida mediante dos estrategias de adición de carbono al sistema; la adición de diferentes fuentes de carbono disponibles y baratas (azúcar, melaza, harina de trigo, mandioca, cáscara de arroz entre otras posibilidades) y por otro lado el incremento del contenido de carbono del alimento formulado al reducir la cantidad de proteína de este mismo (Avnimelech 1999).

Esta última estrategia resultaría en una disminución de los costos de producción pues la proteína es el ingrediente más caro del alimento formulado, además de generar una menor concentración de amoníaco en el agua en comparación a alimentos de alto nivel de proteína. Se evitaría también gastos adicionales por la compra de fuentes de carbono como sucede en la primera estrategia mencionada. En adición, ha sido reportado que la disminución de la proteína del alimento formulado en sistemas BFT no afecta el crecimiento de tilapia la cual es, después de la trucha, una de las especies de mayor producción en el ámbito continental en el Perú (1983.18 toneladas en el 2013) (PRODUCE 2013).

El objetivo general de la presente investigación es evaluar la asimilación del nitrógeno amoniacal total, por el biofloc, utilizando dos estrategias de adición de carbono en el cultivo de alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) bajo sistema BFT. Los objetivos específicos son:

1. Comparar las variables físicas y químicas que influyen (oxígeno disuelto, pH, temperatura y luminosidad) y son parte del desarrollo del biofloc (turbidez, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles) en cada tratamiento.
2. Comparar la asimilación de nitrógeno amoniacal con diferentes porcentajes de proteína en el alimento a una misma relación C/ N.
3. Evaluar el crecimiento y supervivencia de los peces en cada tratamiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. SISTEMAS BFT

La tecnología Biofloc es un sistema en acuicultura el cual se centra en un uso más eficiente del ingreso de nutrientes con mínimo o cero intercambio de agua en los sistemas de cultivo (Avnimelech 1999, Widanarni *et al.* 2012). Estos sistemas están basados en la absorción de compuestos nitrogenados inorgánicos (NAT, N-NO₂ y N-NO₃) por la comunidad microbiana presente en el agua del cultivo (Avnimelech 2006). El principio fundamental es el reciclaje de los nutrientes mediante el mantenimiento de una alta proporción carbono/nitrógeno (C/N) en el agua a fin de estimular el crecimiento de bacterias heterotróficas que convierten amoníaco en biomasa microbiana (Avnimelech 1999).

Esto puede ser logrado mediante la suplementación de una fuente de carbono como sucrosa, melaza, glicerina o acetato de calcio. Alternativamente, ha sido mostrado que alimentos de bajo nivel de proteína pueden también resultar en una relación C/N más alta en el agua de cultivo (Kuhn 2012).

Comercialmente la principal ventaja es el reciclaje del nitrógeno como proteína microbiana que puede ser consumido por la especie cultivada. El consumo de biofloc por el langostino o pez ha demostrado innumerables beneficios tales como el mejoramiento de la tasa de crecimiento (Burford *et al.* 2004 citado por Emerenciano *et al.* 2013). Esto ha sido atribuido a los componentes nutricionales tanto bacterianos y de las algas, con lo cual se ha disminuido hasta el 30 por ciento de la ración alimenticia convencional en el caso de langostino (Panjaitan 2004 citado por Emerenciano *et al.* 2013).

En relación a esto, Hargreaves (2013) indica que más del 20 al 30 por ciento del porcentaje de crecimiento de tilapia o langostino es derivado del consumo y digestión de proteína microbiana (biofloc) convirtiéndolo en un alimento suplementario que puede ser consumido por estas especies entre la alimentación de la dieta de pellets.

2.1.1. CONTROL DE NITRÓGENO INORGÁNICO EN SISTEMA BFT

Los bioflocs son agregados de algas, bacterias, protozoos y otras clases de material orgánico particulado como heces y alimento no consumido. Cada floc se mantiene unido por una matriz de mucosidad que es secretada por las bacterias, por microorganismos filamentosos, o por atracción electrostática. La comunidad presente en los flocs también incluye a los animales que son consumidores de floc, como zooplancton y nematodos (Hargreaves 2013).

Si bien las bacterias heterotróficas juegan un papel importante en controlar los niveles de nitrógeno amoniacal en el agua no son los únicos. La transformación y dinámica de amoníaco en los sistemas biofloc es complejo, implica interacción entre algas y bacterias (nitrificantes y heterotróficas) que compiten por el amoníaco. La relativa importancia de cada proceso depende de muchos factores, entre ellos la tasa de alimentación diaria, la concentración de sólidos suspendidos, la concentración de amoníaco, la intensidad de luz y la relación C/N (Hargreaves 2013).

a) Asimilación bacteriana

A fin de estimular la producción de las bacterias heterotróficas en los sistemas biofloc, la relación C/ N es elevada por la adición de una fuente de carbono suplementaria o por la reducción del nivel de proteína del alimento. Mediante la asimilación bacteriana, el amoníaco es inmovilizado al ser conservado en las células bacterianas como proteínas. Sin embargo esto es temporal debido a que las células bacterianas al descomponerse liberan nitrógeno como amoníaco. Las células también son consumidas por los peces o eliminadas como exceso de sólidos (Hargreaves 2013).

Ya que la tasa de crecimiento y rendimiento de biomasa microbiana heterotrófica por unidad de sustrato son un factor de 10 veces más alto que el de las bacterias nitrificantes, la inmovilización heterotrófica se lleva a cabo mucho más rápido que la

conversión de las nitrificantes (Hargreaves 2006). Es decir cuando sucede la nitrificación en mayor grado, hay más producción de NAT que su consumo por este medio en comparación a la asimilación heterotrófica (Azim et al. 2008).

En un sistema netamente heterotrófico no debería existir la producción de nitrito o nitratos (Ebeling et al. 2006a). Los factores que afectan el crecimiento de las bacterias heterotróficas son pH, alcalinidad, temperatura, oxígeno, amoníaco y salinidad (Timmons et al. 2002 citado por Ebeling et al. 2006a).

b) Nitrificación

Por este medio se presentan procesos de transformación bacteriana de una forma tóxica de nitrógeno (amoníaco, nitrito) a otra que es tóxica solo en altas concentraciones (nitrato). En contraste al rápido ciclado del amoníaco disuelto, entre algas o las células de las bacterias, la nitrificación es responsable a largo plazo del último destino de una gran fracción del nitrógeno (25 a 50 por ciento) del alimento agregado a los sistemas biofloc intensivo. Este mecanismo se convierte relativamente más importante a medida que la intensidad de la producción aumenta, tal como se mide por la tasa de alimentación diaria (Hargreaves 2013). Los mayores factores que afectan la tasa de nitrificación son: La concentración de amoníaco, nitrito, relación carbono/nitrógeno, oxígeno disuelto, pH, Temperatura y alcalinidad (Ebeling et al. 2006a).

c) Captación algal

En sistemas BFT, la asimilación de amoníaco por las algas es limitada por la sombra de los sólidos suspendidos en el agua. No obstante en sistemas expuestos a la luz solar, generalmente a una tasa de alimentación diaria menor de 300 kg / ha (30 g / m²), la actividad de las algas es el mayor factor de control de la calidad de agua. La fluctuación diaria en la concentración de oxígeno disuelto y pH, a pesar de la intensa aireación, es una de las características de los sistemas de biofloc donde la actividad algal es predominante (Hargreaves.2013)...

Como se puede observar en la Figura 1, tanto el NAT excretado por los peces como el NAT formado por la descomposición de la materia orgánica (Alimento no consumido y heces) es controlado por las bacterias nitrificantes y el fitoplancton en estanques acuícolas con largo tiempo de residencia.

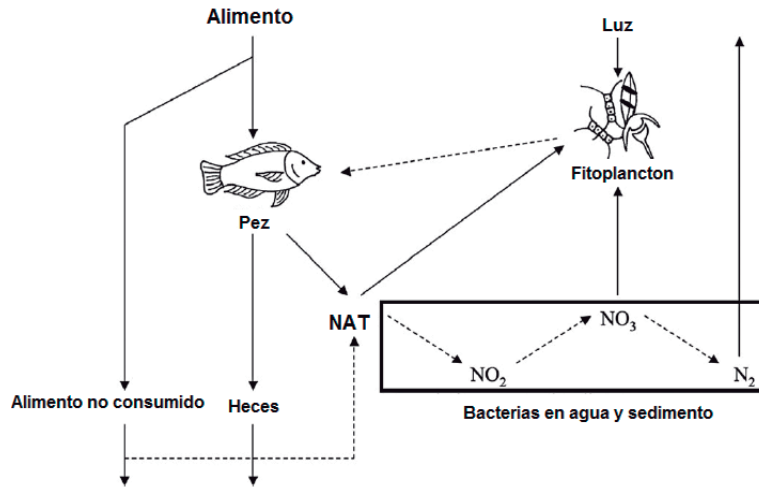


Figura 1: Ciclo del nitrógeno en estanques acuícolas con largo tiempo de residencia.
FUENTE: Crab *et al.* 2007

En el caso de sistemas BFT, el nitrógeno disuelto en el agua es repetidamente ciclado entre amoníaco disuelto y sólidos de algas o bacterias como se observa en la Figura 2.

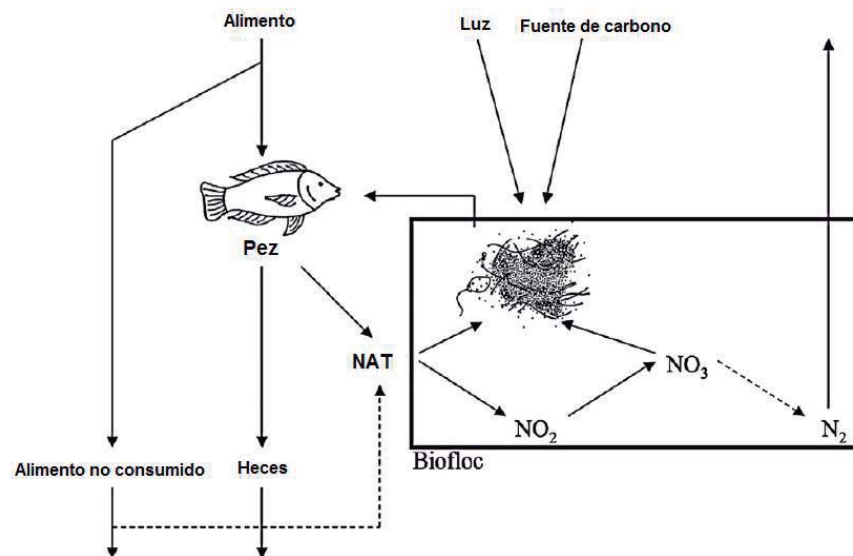


Figura 2: Ciclo del nitrógeno en tanques con tecnología biofloc.
FUENTE: Crab *et al.* 2007.

Si los sólidos son removidos, una significativa fracción del nitrógeno agregado puede ser tomada fuera del sistema. Si los sólidos no son removidos, una gran proporción de nitrógeno (como amoníaco) es en última instancia oxidado a nitrato, el cual es acumulado (Hargreaves 2013).

A partir de esto se puede diferenciar dos tipos de sistemas biofloc:

- Sistemas BFT de “agua verde”.

En estos sistemas expuestos a la luz natural, una mezcla compleja de procesos mediados por algas y bacterias controlan la calidad del agua (Hargreaves, 2013). Así también Baloi *et al.* (2013) reportaron que el crecimiento de langostino fue favorecido por la presencia de luz. Esto asociado a una mayor biomasa de fitoplancton actuando como una fuente de ácidos grasos esenciales y aminoácidos esenciales, vitaminas y carotenoides para los langostinos.

- Sistemas BFT de “agua marrón”

Son sistemas (tanques y raceways) que han sido instalados en construcciones cerradas sin exposición a la luz natural, siendo solo los procesos bacterianos los que controlan la calidad del agua (Hargreaves, 2013). Por la ausencia de luminosidad, estos sistemas podrían requerir más ingreso de oxígeno durante las horas de luz del día, pero los riesgos asociados con la presencia de algas dañinas son reducidas (Baloi *et al.* 2013).

Además, existe otra clasificación de los sistemas BFT:

- Sistemas BFT *In situ*

Estos sistemas son formados en los tanques de cultivo por la manipulación de la proporción C/N a fin de promover el crecimiento de bacterias heterotróficas siendo estos los componentes primarios de los bioflocs. Además los sistemas biofloc *in situ* tienen una alta demanda de oxígeno debido a que los animales cultivados y los bioflocs están en el mismo medio acuático.

Langostinos y peces cultivados en el mismo sistema BFT pueden alimentarse de estos bioflocs para la nutrición. Los bioflocs en estos sistemas frecuentemente contienen una modesta cantidad de energía, lípidos, minerales y proteína siendo capaces los langostinos y algunos peces, tales como tilapia, de consumirlos y así reducir la cantidad de alimento comercial necesitado (Kuhn 2012).

- Sistemas BFT Ex-Situ

Los biofloc Ex situ están formados en reactores biológicos de crecimiento suspendido. Estos reactores pueden ser empleados para remover sólidos y nitrato de los efluentes de la producción acuícola. Debido a que los bioflocs son producidos externamente de los sistemas de cultivo, la demanda de oxígeno primaria es de los langostinos o peces. Los bioflocs concentrados por sedimentación, centrifugación o filtración pueden ser usados como un alimento suplementario por los langostinos o peces. Así también pueden ser concentrados y/o secados para su uso como un ingrediente en alimentos acuícolas (Kuhn 2012).

2.1.2. MANEJO DEL SISTEMA BFT

El manejo de los sistemas biofloc no es tan simple, algún grado de sofisticación técnica es requerido para que el sistema sea totalmente funcional y lo más productivo (Hargreaves 2013). Previo al trabajo eficiente del sistema BFT existe una etapa de estabilización o start up, durante el cual se establecen los microorganismos que controlan la concentración de nitrógeno inorgánico. La puesta en marcha de sistema, está caracterizada por un periodo lento de alcance de las concentraciones máximas de amoníaco y luego nitrito a medida que se desarrollan las diferentes poblaciones de bacterias.

Estas concentraciones pueden ser evitadas o minimizadas mediante la adición de carbohidratos. Protocolos de aclimatación para estos sistemas no se han estandarizado, y muchos operadores del sistema han desarrollado sus propias técnicas a través de la experiencia ganada. La duración de la puesta en marcha depende de factores como la temperatura, la programación de la tasa de alimentación, y pre-siembra del sistema con el adecuado tipo y cantidad de microorganismos (Hargreaves 2013).

a) Adición de fuentes de carbono

El control del amonio a través de la vía heterotrófica es más estable y confiable que la asimilación algal o la nitrificación (Hargreaves 2013). Para alcanzar este control de la comunidad bacteriana sobre los microorganismos autotróficos es necesario usar una alta relación C/N. La energía generada a partir de esto permite el mantenimiento (respiración, la alimentación, el movimiento, la digestión, etc.), crecimiento y producción de nuevas células bacterianas (Emerenciano et al. 2013).

La baja tasa de asimilación microbiana de nitrógeno en proporciones de C/N menores a 10, lleva a un incremento de compuestos nitrogenados inorgánicos tales como amoníaco, nitrito y nitrato en el sistema de cultivo (Gong et al. 2011). Por otro lado es importante poner atención a las variaciones en los niveles de oxígeno disuelto e hipoxia generada en sistemas con tratamientos de alta relación C/N debido a la alta actividad de microorganismos heterotróficos (Luo et al. 2013, Zhao et al. 2014).

Para el crecimiento bacteriano y la generación de energía, las fuentes de carbono suplementarias son necesarias, su descomposición depende de factores medioambientales como la temperatura y el oxígeno. Así, el uso de fuentes disponibles tales como melaza y dextrosa, así como el uso de otras con menor disolución como es el caso de harinas de plantas son necesarias como fuentes de carbono para las bacterias heterotróficas (Avnimelech 2009, Crab et al. 2009, Serra et al. 2015).

Las fuentes de carbono aplicado en BFT son frecuentemente subproductos derivados de la industria alimenticia que son disponibles localmente. Fuentes de carbohidratos baratas como melaza, glicerol y harina de plantas (por ejemplo trigo, maíz, arroz, tapioca etc.) se aplican antes de la siembra de alevines / post-larvas y durante la fase de engorde, con el objetivo de mantener una alta relación C/N y para el control de altas concentraciones de los compuestos de nitrógeno. Hay muchas consideraciones para su selección tales como costos, disponibilidad, biodegradabilidad y eficiencia de la asimilación bacteriana (Emerenciano *et al.* 2013).

b) Medición de parámetros

- Concentración de oxígeno y mezcla

Los sólidos deben estar suspendidos en la columna de agua en todo momento o el sistema no funcionará. Sin mezcla, los bioflocs sedimentan y pueden formar pilas que consumen rápidamente el oxígeno disuelto del medio. Estas zonas anaeróbicas pueden llevar a la liberación de sulfuro de hidrógeno, metano, y amoníaco que son altamente tóxicos para langostinos y peces. Es absolutamente esencial proveer suficiente aireación u oxigenación para satisfacer la alta demanda de oxígeno y para mantener la concentración de oxígeno en niveles seguros (Hargreaves 2013).

Normalmente se puede establecer el nivel mínimo de 4 mg/L sin embargo hay que ajustar el uso del aireador de acuerdo el tamaño de los peces y la biomasa del tanque (Avnimelech 2011).

- pH y alcalinidad

La actividad de las bacterias nitrificantes es responsable de la mayoría de pérdidas de alcalinidad en sistemas intensivos de biofloc. Con el tiempo, el ácido producido por la nitrificación agota las reservas de alcalinidad en el agua. Una vez que la alcalinidad es agotada, el pH puede descender abruptamente, inhibir la función bacteriana, incluyendo el de las importantes bacterias nitrificantes. En ese caso, el amoníaco se acumula hasta el punto donde el apetito del pez y la respuesta alimenticia son reducidos. La alcalinidad debe ser mantenida entre 100 y 150 mg/L como CaCO_3 mediante la adición regular de bicarbonato. (Hargreaves 2013).

- Nitrógeno inorgánico disuelto

Esto se realiza de manera frecuente en la puesta en marcha o estabilización del sistema sin embargo es necesario realizarlo de manera eventual durante la operación del sistema especialmente si se está trabajando con un sistema biofloc In situ.

- Medición y manejo de sólidos

En los sistemas BFT, la formación de sólidos suspendidos podría convertirse en el segundo factor limitante para incrementar los niveles de producción después del oxígeno disuelto (Ebeling et al. 2006 citado por Schweitzer et al. 2013).

Una concentración de sólidos de 200 a 500 mg/L es suficiente para el buen funcionamiento del sistema y control de amoníaco sin excesiva respiración en el agua. La concentración debe ser lo suficientemente baja para proveer suficiente biofiltración y no tan alto que el requerimiento para aireación y poder de mezcla sea excesivo. Una concentración relativamente baja de sólidos suspendidos también permite la fotosíntesis por las algas que contribuye al suministro de oxígeno (Hargreaves 2013). Por otro lado a niveles de sólidos de 400 y 800 mg/L; ha sido encontrado que el amoníaco y el nitrito fueron controlados principalmente por bacterias nitrificantes lo cual permitió una mayor estabilidad de estos compuestos y del oxígeno (Schveitzer et al. 2013).

En el caso del cultivo de langostino en sistema BFT, la remoción de sólidos a altas concentraciones podría mejorar la calidad de agua y la producción de esta especie al disminuir los niveles de estrés, demanda bioquímica de oxígeno y problemas en la alimentación (Vinatea et al. 2010 , Ray et al. 2010).

Sin embargo un alto grado de remoción de sólidos podría afectar la concentración de las bacterias nitrificantes y esto podría generar un problema en la calidad de agua (Ebeling 2006c citado por Schveitzer et al. 2013).

Tanques de sedimentación para el control de sólidos

También conocidos como clarificadores son usados para el control de concentración de sólidos a altas tasas de alimentación en sistemas biofloc súper intensivos. Los clarificadores pueden funcionar de forma intermitente cada vez que la evaluación de la concentración de sólidos con conos Imhoff indica que se ha superado el rango establecido. Alternativamente, los clarificadores pueden ser operados de forma continua en caso de que se calibren de modo que una proporción relativamente pequeña del volumen del tanque se aclara cada día (Hargreaves 2013).

En la Figura 3 se observa el diseño de un tanque de sedimentación

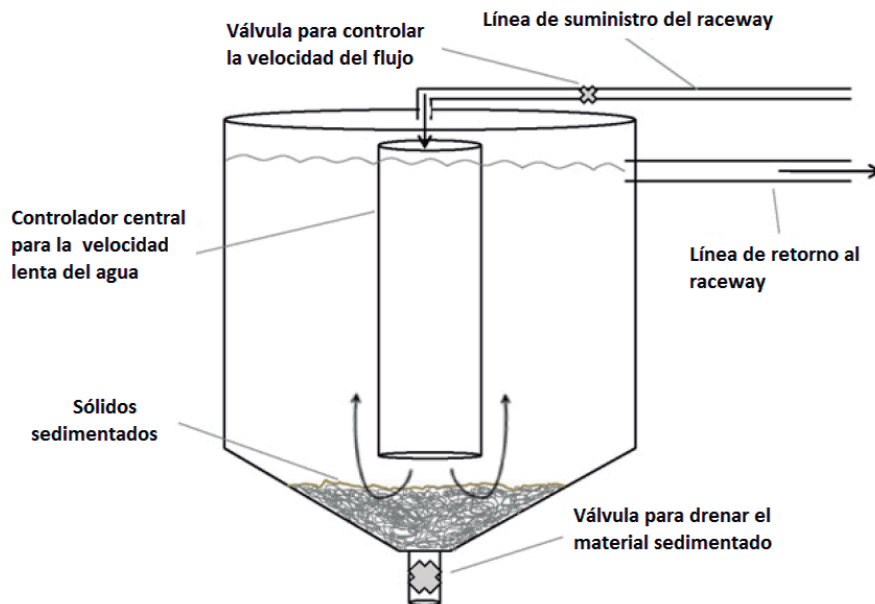


Figura 3: Diseño de una cámara de sedimentación.

FUENTE: Ray et al. 2011.

Al ser manejada la concentración del Biofloc con un tanque de sedimentación externa similar a este, Ray et al. (2010) redujó en un 60 por ciento la concentración de nitratos.

2.2. REQUERIMIENTOS DE CALIDAD DE AGUA Y NUTRICIONAL EN EL CULTIVO DE TILAPIA

La tilapia es un pez teleósteo, del orden Perciforme perteneciente a la familia Cichlidae Originario de África, habita la mayor parte de las regiones tropicales del mundo, donde las condiciones son favorables para su reproducción y crecimiento. Es un alimentador omnívoro que se alimenta de fitoplancton, perifiton, plantas acuáticas, pequeños invertebrados, fauna béntica, desechos y capas bacterianas asociadas al detritus. La tilapia del Nilo puede filtrar alimentos tales como partículas suspendidas, incluyendo el fitoplancton y bacterias que atrapa en las mucosas de la cavidad bucal, si bien la mayor fuente de nutrición la obtiene pastando en la superficie sobre las capas de perifiton (FAO 2014).

Esta especie es ampliamente cultivada debido a su rápido crecimiento y extremada resistencia a condiciones ambientales adversas, particularmente a deficiencias crónicas de oxígeno disuelto, así como también a las pocas enfermedades que le afectan. Otras características notables son su alta resistencia al manejo y adaptabilidad a diversos sistemas de cultivo, además por sus hábitos principalmente herbívoros convierte el alimento en carne mejor que cualquier otra especie cultivada (Olvera –Novoa 2002).

a) Calidad de agua

En la Tabla 1, se observan los niveles óptimos, mínimos y tolerantes de Oxígeno, amoníaco, temperatura y pH en el cultivo de tilapia.

- Oxígeno disuelto

De preferencia se recomienda mantener niveles óptimos mayores a 5 mg/L debido a que este valor puede disminuir por reacciones químicas de descomposición de materia orgánica, alimento no consumido, heces, aumentos en la tasa metabólica por incremento en la temperatura, desgasificación a la atmosfera cuando la concentración excede la saturación o disminución de la fotosíntesis por nubosidad (Castillo 1994 citado por Kingle et al. 2000).

Según Toledo (2005), citado por Camacho (2012) los bajos valores de oxígeno producen inapetencia y letargia, afectan la tasa de crecimiento, aumentan la conversión del alimento, susceptibilidad a enfermedades y disminuyen la capacidad reproductiva.

- Temperatura

Las tilapias necesitan temperaturas elevadas para su desarrollo, el rango óptimo para el cultivo es de 28 a 32°C (Alicorp 2002 citado por Escalante 2009). Temperaturas menores a 12°C son letales para la tilapia nilótica, pudiendo tolerar temperaturas de hasta 8°C por espacio de 3 a 4 horas y los límites superiores de tolerancia varían entre los 37°C y 42°C (Balarin y Hatton 1979, Lund y Figueira 1989 citado por Borrovich 2010).

- pH

Las tilapias pueden tolerar pH entre 5 a 11, sin ningún tipo de efecto adverso, valores menores de cinco producen mortalidad en un periodo de 3 a 5 horas por fallas respiratorias; además causan pérdidas de pigmentación e incremento de la secreción de mucus de la piel (Boyd 1979). En el caso específico de alevines, el pH debería oscilar entre 7 y 8 para un crecimiento óptimo, altos rendimientos y adecuada tasa de supervivencia (Sherif y El –Feky 2009).

- Nitrógeno inorgánico disuelto

La tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus* puede tolerar niveles altos que van desde 1.1 a 4.1 mg/L de N-NH₃ durante largos periodos de tiempo (hasta 96 horas), mostrando una mortalidad del 50 por ciento. En esta especie, también se ha encontrado que la sensibilidad varía de acuerdo al tamaño de los peces y a la temperatura del agua (Abdalla *et al.* 1996 citado por Ingle de la Mora *et al.* 2003).

En el caso de nitritos (N-NO₂) valores mayores a 5 mg/L provocan mortalidad de tilapia (Rakocy 1989, Liñán 2007). En el caso de nitratos (N-NO₃) concentraciones de 600 a 700 mg/L afectan el consumo de alimento de esta especie (Rakocy *et al.* 2000).

Tabla 1: Niveles de oxígeno, amoníaco, temperatura y pH en el cultivo de tilapia.

Referencia	Oxígeno disuelto (mg/L)			Amoníaco (mg/L)			Temperatura °C			Concentración de ión hidrógeno (pH)	
	óptimo	tolerancia	mín.	óptimo	tolerancia	máx.	óptimo	tolerancia	mín.	óptimo	
Balarin y Halton (1979)			2 a 3					15	12		
Rakocy (1989)	>5		2			2	27 a 32				7 a 8
Boyd (1990)	5 a 6			0.5 a 0.7							8.5 - 8.8
ALICORP (2002)	>5						28 a 32				6 a 9
Riche y Garling (2003)		3 a 5	3	0.6 a 2	1	2					6.5- 8.5

FUENTE: Escalante 2009.

b) Requerimiento nutricional

En general las tilapias son predominantemente herbívoras y omnívoras, y adicionalmente se les considera especies oportunistas que modifican su nicho trófico según la estación del año, edad e inclusive sexo (Olvera-Novoa 2002).

La proteína es el componente más importante del cuerpo del pez y del alimento, cumple funciones de mantenimiento, crecimiento, reproducción y energía; su deficiencia produce retardo en el crecimiento o pérdida del peso. Así también los lípidos son fuentes importante de energía, de ácidos grasos esenciales y favorecen la utilización de la proteína dietaria. Por otro lado los carbohidratos representan una fuente de energía en la fase de engorde, niveles hasta 40 por ciento en la dieta mejoran el crecimiento (Ubarne 2003).

Los requerimientos proteicos para tilapia se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Requerimiento de proteína para tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Etapa	Proteína (%)	Referencia
Alevin	45	El-Sayed y Teshima, 1992
Cría 1-5 g	28-36	De Silva <i>et al.</i> 1989
Juvenil	30	Siddiqui <i>et al.</i> 1988 , Wang <i>et al.</i> 1985

FUENTE: Escalante 2009.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en uno de los invernaderos del Centro de Investigación Piscícola (CINPIS) acondicionado para la producción de un sistema biofloc, y los análisis de calidad de agua en el Laboratorio de Recursos y Medio Ambiente de la Facultad de Pesquería de la Universidad Nacional Agraria La Molina. El período de investigación presentó una etapa pre experimental (cuatro semanas) y la etapa experimental (ocho semanas) durante los meses de Octubre y Noviembre.

3.1. ETAPA PRE EXPERIMENTAL

3.1.1. PREPARACIÓN Y MANTENIMIENTO DE BIOREACTORES DE BIOFLOC

El biofloc usado en la etapa experimental fue preparado en dos bioreactores acondicionados en el invernadero. Estos bioreactores fueron mantenidos, siguiendo el protocolo planteado por Mejía (2014), hasta que las concentraciones del nitrógeno inorgánico disuelto en el agua se mantuvieran bajas y estables (etapa de estabilización) lo cual sucedió después de cuatro semanas.

Los bioreactores fueron producidos en dos tanques circulares de fibra de vidrio a un volumen de 1600 L cada uno, con tres piedras difusoras de cerámica (15 cm de largo y 3.5 cm de ancho cada una) y tres calentadores marca SOBO de 300 W en cada tanque. La puesta en marcha del sistema biofloc se inició con la siembra, en cada tanque, de 1.63 kg/m³ de juveniles de tilapia gris *Oreochromis niloticus*. Estos peces fueron alimentados con alimento de tipo extruido (35 por ciento de proteína) a una tasa de alimentación diaria de cuatro por ciento. No se realizó ningún recambio de agua y solo pérdidas por evaporación fueron repuestas a cada bioreactor. La operación y mantenimiento de los bioreactores implicó la ejecución de las siguientes actividades:

a) Medición de parámetros físicos y químicos

En la Tabla 3 se indica la frecuencia, método o equipo de medición de los parámetros físicos y químicos.

Tabla 3: Equipos y frecuencia de medición de parámetros físicos y químicos (Etapa pre experimental).

Parámetro	Unidades	Frecuencia de medición	Equipo de medición o método
Temperatura y oxígeno disuelto	Temperatura : °C oxígeno: mg/L	Diariamente a las 8:00 a.m. y 3:00 p.m.	Oxímetro YSI 550 A
pH	Sin unidades	Diariamente a las 8:00 a.m. y 3:00 p.m.	Potenciómetro Oakton modelo pHTestr20
Sólidos sedimentables	mL/L	Diariamente a las 7 a.m.	Medición después de 20 minutos de sedimentación de un 1L de muestra en un cono de Imhoff (Avnimelech y Kochba 2009)
Alcalinidad	mg CaCO ₃ /L	Diariamente a las 8 a.m.	Método volumétrico (Severiche <i>et al.</i> 2013).
Luminosidad	Klux	Diariamente a las 8:00 a.m. y 3:00 p.m.	Luxómetro EXTECH.
Nitrógeno amoniacal total (NAT)	mg/L	Dos veces a la semana	Método de HACH 8038 (Método Nessler). La absorbancia fue medida en 655 nm
Nitritos (N-NO ₂)	mg/L	Dos veces a la semana	Método de HACH 8507 (diazotización). La absorbancia fue medida en 507nm.
Nitratos (N-NO ₃)	mg/L	Dos veces a la semana	Método de HACH 8039 (Reducción de Cadmio). La absorbancia fue medida en 500nm.

FUENTE: Elaboración propia.

La medición de NAT, nitritos y nitratos se llevó a cabo con muestras de agua previamente filtradas con papel filtro de 9 µm y diluidas con agua desionizada al 10 por ciento.

Por otro lado, el porcentaje de amoníaco en la concentración de NAT se determinó ingresando los datos de pH y temperatura del agua en la tabla elaborada por Thurston *et al.* (1979) (ANEXO 1). Para hallar la concentración de amoníaco (mg/L) se multiplicó este porcentaje por la concentración de NAT.

b) Determinación de la relación C/N del alimento formulado

La relación C/N del alimento fue aproximadamente 9.4. Para determinar esta proporción se dividió los porcentajes de nitrógeno y carbono del alimento tal como se presenta en la siguiente ecuación:

$$(C/N)_a = \frac{(\%MO/1.724)}{(0.16) \times (0.35)} \dots\dots\dots \text{Ecuación (1)}$$

FUENTE: Adaptado de Ruiz 2012 y Eyherabide *et al.* 2014.

Donde:

(C/N)_a: Relación C/N del alimento.

%MO: Porcentaje de materia orgánica del alimento, determinada mediante el Método de calcinación de una muestra (Schulte y Hopkins, 1996).

1.724: Coeficiente de Van Bemmelen que establece una relación numérica entre el porcentaje de materia orgánica y el porcentaje de carbono total del alimento (Tabatabai 1996 citado por Eyherabide *et al.* 2014).

0.16: Porcentaje de nitrógeno de la proteína (Craig y Helfrich 2002 citado por De Schryver *et al.* 2008).

0.35: Porcentaje de proteína del alimento.

c) Adición de melaza

Ya que la relación C/N estuvo debajo del rango adecuado para el crecimiento de las bacterias heterotróficas (10-20) (Hargreaves 2006, Ballester *et al.* 2010), se adicionó melaza como fuente de carbono hasta alcanzar la relación C/N de 15 en los bioreactores de biofloc mediante la Ecuación 2:

$$M = \frac{((C/N) - (C/N)_a) \times A \times \%Pt \times \%N \times \%NL}{\%CM} \dots\dots\dots\text{Ecuación (2)}$$

FUENTE: Adaptado de De Shryver *et al.* (2008) y Crab *et al.* (2009)

Donde:

M: Cantidad de melaza a suministrar (g/día) para alcanzar la relación C/N

C/N: Es la relación C/N que se quiere alcanzar.

(C/N)_a: Es la relación C/N del alimento formulado que será usado.

A: Cantidad de alimento suministrado al día (g).

%Pt: Porcentaje de proteína del alimento.

%N:(0.16) Porcentaje de nitrógeno en la proteína (Craig y Helfrich 2002 citado por De Schryver *et al.* 2008).

%NL:(0.82) Porcentaje de nitrógeno del alimento que termina en el agua después de la alimentación en el cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Green y Boyd citado por Mizanur *et al.* 2004).

%CM:(0.5) Porcentaje de carbono en la melaza, determinado mediante el Método de calcinación (Schulte y Hopkins, 1996).

d) Corrección de la alcalinidad

A fin de evitar problemas en el sistema, la baja alcalinidad del agua usada en los bioreactores (50-60 mg CaCO₃/L) se elevó hasta 100 mg CaCO₃/L (Azim y Little 2008, Ray *et al.* 2010, Hargreaves 2013, Vinatea *et al.* 2010). Para lo cual se adicionó bicarbonato de sodio, cuya cantidad fue determinada mediante los cálculos sugeridos por Loyless y Malone (1997) (Anexo 2). Una vez pesado el bicarbonato de sodio, este fue diluido y adicionado durante toda la mañana para evitar que un aumento abrupto de pH afectara a los peces.

e) Remoción de sólidos

La extracción de sólidos se llevó a cabo en cada bioreactor cada vez que la concentración de sólidos sedimentables alcanzó niveles iguales o mayores a 50 mL/L como lo sugiere Avnimelech (2011). Mediante proporciones matemáticas como la regla de tres simple se determinó que volumen de agua era necesario retirar para eliminar cierta cantidad de sólidos, a fin de alcanzar la concentración de 30 mL/L. Una vez sedimentados, estos sólidos fueron extraídos y el agua volvió al bioreactor.

En el Anexo 1 se aprecia uno de los bioreactores ya estabilizados, al llegar a este punto los peces fueron cosechados y el contenido de los dos bioreactores fue mezclado y posteriormente dividido entre las unidades experimentales.

3.1.2. MATERIAL BIOLÓGICO Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Se compraron 3000 alevines de tilapia gris de peso promedio de 0.7 g, sexualmente revertidos con la Hormona 17- α -metiltestosterona. Los alevines llegaron provenientes de la Provincia de Tarapoto por vía aérea una semana antes de iniciar la experimentación, hasta entonces fueron mantenidos en dos tanques de 2.5 m³ en un área destinada a cuarentena.

Los alevines fueron aclimatados a las condiciones de temperatura y pH del agua de los tanques para luego recibir un baño de sal (30ppm) durante 30 segundos a fin de prevenir la presencia de hongos y evitar el ingreso de peces enfermos a las unidades experimentales. Un día antes de iniciar la etapa experimental se realizó la clasificación de los alevines de acuerdo al tamaño eliminando los peces muy pequeños y muy grandes.

En el caso de las unidades experimentales, estas estuvieron conformadas por seis tanques cuadrados de concreto, pintados con pintura epóxica blanca (Anexo 2) y tres tanques circulares de fibra de vidrio. En cada tanque se instaló manguerillas y tres piedras difusoras (15 cm de largo) y todo el sistema fue suministrado de aire por una bomba (*Blower*) marca Sweetwater de 1/3 HP. También se instaló en cada tanque un calentador de 300 W con la finalidad de mantener la temperatura en un rango de 26 a 30 °C.

Tanto los tanques de concreto como los de fibra de vidrio de 0.5 m³ y 0.4 m³ de capacidad respectivamente, fueron llenados a un volumen de uso de 0.35 m³ para iniciar la etapa experimental.

3.1.3. ESTABLECIMIENTO DE LA HORA DE TOMA DE MUESTRAS DE AGUA

En uno de los bioreactores se midió la concentración de NAT durante un día, cada dos horas desde las 8 a.m. hasta las 6 p.m, alcanzándose el mayor valor a la 1p.m. Esta hora fue establecida para la toma de muestras de agua durante la etapa experimental a fin de evaluar las concentraciones más altas de NAT durante la experimentación.

3.1.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

A fin de evaluar el efecto de usar dos estrategias de adición de carbono en el sistema biofloc, se trabajó con tres tratamientos bajo la misma relación C/N. Como se expone en la Tabla 3, el primer tratamiento (T1) implicó la estrategia de adición de carbono como parte del alimento formulado (30 por ciento de proteína). En los otros dos tratamientos (T2 y T3) se adicionó melaza (alimento de 35 y 40 por ciento de proteína) como fuente de carbono adicional para alcanzar la misma relación C/N del alimento de 30 por ciento.

Tabla 4: Características de los tratamientos.

	ESTRATEGIA 1	ESTRATEGIA 2	
	T1	T2	T3
Porcentaje de proteína en el alimento	30%	35%	40%
Relación calculada de C/N del alimento	10.8	9.4	8.1
Adición de melaza	-	Si	Si
Relación C/N teórica alcanzada	10.8	10.8	10.8

FUENTE: Elaboración propia.

Estas relaciones C/N de los alimentos fueron determinadas por medio de la metodología aplicada en la Ecuación 1 (ecuación del subtítulo 3.1.1. (b)).

Cada tratamiento tuvo tres réplicas, y las unidades experimentales fueron designadas aleatoriamente a cada uno de los tratamientos (Diseño completamente al azar) tal como se presenta en la Figura 6.

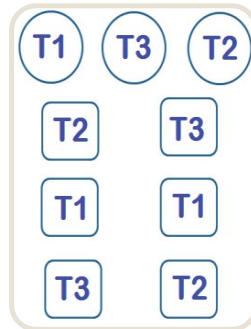


Figura 4: Distribución aleatoria de los tratamientos.

FUENTE: Elaboración propia.

A partir de lo mencionado se planteó la siguiente hipótesis:

H₀: No existen diferencias en la asimilación de nitrógeno amoniacal total entre el tratamiento de la Estrategia 1 (T1) y los tratamientos de la Estrategia 2 (T2 y T3).

H_a: Existen diferencias en la asimilación de nitrógeno amoniacal total entre el tratamiento de la Estrategia 1 (T1) y al menos uno de los tratamientos de la Estrategia 2 (T2 y T3).

3.2. ETAPA EXPERIMENTAL

3.2.1. SIEMBRA DE ALEVINES

Se sembraron en cada unidad experimental 150 alevines de tilapia gris con un peso promedio de 0.8 ± 0.2 g y fueron criados durante 8 semanas a un volumen de 0.35 m^3 (Densidad de siembra 0.35 kg/ m^3). En el Anexo 3 se observa la siembra de los alevines en uno de los tanques.

3.2.2. ALIMENTACIÓN DE LOS ALEVINES

El alimento usado fue de tipo peletizado. La formulación de las dietas se realizó en el Laboratorio de Acuicultura de la Facultad de Pesquería de la UNALM y la preparación en la Planta de alimentos de la UNALM. En la Tabla 4 se presenta la composición de las dietas experimentales analizadas en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la UNALM, mediante la metodología de la AOAC.

Tabla 5: Composición químico proximal de las dietas experimentales de cada tratamiento.

	ALIMENTO		
	T1	T2	T3
Humedad (%)	9.2	8.97	7.94
Proteína (%)	30.41	34.78	40.06
Grasa (%)	15.43	14.01	12.42
Fibra cruda (%)	4.75	3.81	4.11
Ceniza (%)	8.33	8.23	8.84

FUENTE: LENA.

El alimento fue entregado 4 veces al día (8 a.m., 11 a.m., 2 p.m. y 5 p.m.) con una tasa de alimentación inicial del 12 por ciento la cual fue ajustada hasta el 6 por ciento al final del experimento (FAO 2014).

3.2.3. MEDICIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA

En la Tabla 6 se indica el procedimiento de medición de los parámetros físicos y químicos medidos durante toda la etapa experimental.

Tabla 6: Equipos y frecuencia de medición de parámetros físicos y químicos (Etapa experimental).

Parámetro	Unidades	Frecuencia de medición	Equipo de medición o método
Temperatura y oxígeno	Temperatura : °C oxígeno: mg/L	Diariamente a las 8:00 a.m. y 5:00 p.m. Tres veces a la semana también se midieron a la 1:00 p.m.	Oxímetro YSI 550 A
pH	Sin unidades	Diariamente a las 8:00 a.m. y 5:00 p.m. Tres veces a la semana también se midieron a la 1:00 p.m.	Potenciómetro Oakton modelo pHTestr20
Sólidos sedimentables (SS)	mL/L	Diariamente a las 7 a.m.	Medición después de 20 minutos de sedimentación de un 1L de muestra en un cono de Imhoff (Avnimelech y Kochba 2009)
Sólidos suspendidos totales (SST)	mg/L	Tres veces a la semana	Se determinó mediante la metodología aplicada por el APHA (Método 2540 D.)
Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	mg/L	Tres veces a la semana	Se determinó mediante la metodología aplicada por el APHA (Método 2540 E.)
Turbidez	NTU	Tres veces a la semana	Turbidímetro LA MOTTE
Alcalinidad	mg CaCO ₃ /L	Diariamente a las 8 a.m.	Método volumétrico (Severiche <i>et al.</i> 2013)
Luminosidad	Klux	Diariamente a las 8:00 a.m. y 5:00 p.m. Tres veces a la semana también se midieron a la 1:00 p.m.	Luxómetro EXTECH

FUENTE: Elaboración propia.

En los Anexos 8 y 9 se presenta el proceso de medición de la alcalinidad y Sólidos sedimentables respectivamente.

Con respecto a la evaluación de las concentraciones de NAT, Nitritos (N-NO₂) y Nitratos (N-NO₃), las muestras de agua fueron previamente filtradas por un papel filtro de 9 µm y diluidas al 10 por ciento con agua desionizada. La medición se realizó en un espectrofotómetro de la marca HACH modelo *DR/2500* y en la Tabla 7 se resume la frecuencia y los métodos empleados.

Tabla 7: Frecuencia y métodos de medición de nitrógeno inorgánico disuelto.

Nitrógeno inorgánico disuelto	Unidad	Frecuencia	Método
NAT	mg/L	Tres veces a la semana, a la 1p.m.	Método de HACH 8038 (Nessler). La absorbancia fue medida en 655 nm.
Nitritos (N-NO ₂)	mg/L	Dos veces a la semana, a la 1p.m.	Método de HACH 8507 (Diazotización). La absorbancia fue medida en 507nm.
Nitratos (N-NO ₃)	mg/L	Dos veces a la semana, a la 1p.m.	Método de HACH 8039 (Reducción de Cadmio). La absorbancia fue medida en 500nm.

FUENTE: Elaboración propia.

En el Anexo 6 se presentan los reactivos y materiales usados para el Método Nessler (HACH 8038) y en el Anexo 7 la preparación de las muestras de agua para medir NAT en el espectrofotómetro.

El porcentaje de amoníaco en la concentración de NAT se determinó ingresando los datos de pH y temperatura del agua en la tabla elaborada por Thurston *et al.* (1979) (Anexo 9). Para hallar la concentración de amoníaco (mg/L) se multiplicó este porcentaje por la concentración de NAT.

3.2.4. MANEJO DEL SISTEMA

El manejo del sistema biofloc fue similar al realizado en la preparación y mantenimiento de los bioreactores de biofloc.

- a) Mantenimiento de la relación C/N de 10.8 /1 en T2 (35%) y T3 (40%)

En los tratamientos T2 y T3 se adicionó melaza a fin de alcanzar la misma relación C/N del T1. Para determinar la cantidad de melaza, se empleó la Ecuación 2 (Ecuación del Subtítulo 3.1.1. (c)) de la siguiente forma:

$$M = \frac{(10.8 - (C/N)_a) \times \%Pt \times 0.16 \times 0.82 \times A}{\%C}$$

Donde:

M: Cantidad de melaza a adicionar (g).

(C/N)_a: Relación C/N del alimento

- Alimento de 35 por ciento (T2): 9.4
- Alimento de 40 por ciento (T3): 8.1

0.16: Porcentaje de nitrógeno en la proteína (Craig y Helfrich 2002 citado por De Schryver *et al.* 2008).

0.82: Porcentaje de nitrógeno del alimento que termina en el agua después de la alimentación en el cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Green y Boyd, citado por Mizanur *et al.* 2004).

A: Cantidad de alimento suministrado al día (g)

%C: El porcentaje de carbono de la melaza usada fue 50 por ciento, determinada mediante el Método de calcinación (Schulte & Hopkins, 1996).

- a) Adición de melaza

Una vez determinada la cantidad de melaza, esta fue diluida y adicionada a los tanques poco después del primer horario de alimentación del día. Se usó un filtro de tela de 300 µm para filtrar la solución de melaza, a fin de evitar el ingreso de residuos inorgánicos, y la adición se realizó de forma homogénea en la superficie de la columna de agua (Anexo 8).

- b) Corrección de la alcalinidad

En todas las unidades experimentales se corrigió la alcalinidad hasta 100 mg CaCO₃/L cada vez que esta disminuyera a un nivel igual o menor que 75 mg CaCO₃/L (Mejía *et al.* 2014) en al menos un tanque.

Para determinar la cantidad de bicarbonato de sodio necesario para elevar la alcalinidad se usaron los cálculos sugeridos por Loyless y Malone (1997) (Anexo 10). Una vez pesado, el bicarbonato de sodio fue diluido y adicionado durante la mañana en un intervalo de cuatro horas para evitar que el aumento abrupto de pH afectara a los peces.

c) Remoción de sólidos

El procedimiento de remoción de sólidos del sistema fue el mismo que se aplicó en la etapa pre experimental con los bioreactores. El nivel máximo de sólidos sedimentables (SS) para llevar a cabo la remoción fue 50 mL/L, disminuyendo este nivel a 30 mL/L.

3.2.5. EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA

La determinación del crecimiento (aumento de biomasa) se realizó al final de la experimentación a través del pesado de los peces de cada unidad experimental por grupos de 20, mediante una balanza marca *Denver Instrument Company* (aproximación de 0.001g). Para calcular la supervivencia se contabilizó el número de alevinos vivos al final de la experimentación.

3.2.6. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Para cada parámetro, los datos fueron ordenados y graficados por semanas y por tratamientos con promedios entre réplicas, mediante hojas de cálculo del programa Microsoft Excel (v. 2010). Los parámetros relacionados al desarrollo del biofloc (Sólidos suspendidos totales y volátiles), los parámetros de calidad de agua (turbidez, OD, pH, temperatura, NAT, amoníaco, nitritos y nitratos) y Luminosidad fueron comparados usando la prueba de ANOVA Medidas repetidas (ANOVA MR), con los tratamientos como el factor principal y el tiempo (semanas de experimentación) como el factor adicional.

Los resultados de esta prueba permiten conocer si existe o no un efecto significativo del tratamiento y del tiempo en la variable de medición. Las diferencias significativas entre tratamientos y semanas de experimentación fueron analizadas usando la prueba Tukey. Esta y la prueba ANOVA MR se llevaron a cabo con el *software SPSS Statistics Base v. 22*. Con respecto al crecimiento, este fue comparado mediante la prueba ANOVA de un factor.

Debido al incumplimiento de los supuestos de homocedasticidad y normalidad, los valores de sólidos sedimentables y porcentaje de supervivencia (transformado por el arco seno) de los tres tratamientos fueron comparados mediante la prueba no paramétrica H de Kruskal Wallis con el *software SPSS Statistics Base v. 22*.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE CALIDAD DE AGUA DURANTE LA ETAPA EXPERIMENTAL

En la Tabla 8 se presentan los promedios y desviación estándar así como los rangos (valores máximos y mínimos) de los parámetros físicos y químicos registrados en los tres tratamientos durante la etapa experimental.

Tabla 8: Parámetros físicos y químicos del agua.

Parámetros	Tratamientos		
	T1(30%)	T2(35%)	T3(40%)
OD (mg/L)			
8am	6.92 ± 0.33 (6.09-7.97)	6.81 ± 0.35 (5.51-7.95)	6.84 ± 0.37 (5.75-7.81)
1pm	6.83 ± 0.36 (6.01-7.78)	6.68 ± 0.38 (6.27-7.7)	6.61 ± 0.39 (5.66-7.56)
5pm	6.65 ± 0.35 (5.41-7.58)	6.54 ± 0.37 (5.33-7.85)	6.52 ± 0.38 (5.24-7.47)
Temperatura (°C)			
8am	27.84 ± 0.62 (26.3-29.70)	27.82 ± 0.55 (26-29.1)	27.9 ± 0.59 (26.2-29.9)
1pm	28.34 ± 0.69 (26.70-29.8)	28.37 ± 0.68 (26.40-30.1)	28.40 ± 0.64 (26.8-29.9)
5pm	28.53 ± 0.75 (26.70-30.9)	28.57 ± 0.67 (26.4-29.9)	28.54 ± 0.79 (26.0-30.1)
pH			
8am	7.79 ± 0.10 (7.55-8.0)	7.74 ± 0.12 (7.49-7.96)	7.73 ± 0.13 (7.41-8.02)
1pm	7.81 ± 0.11 (7.54-8.01)	7.74 ± 0.10 (7.53-7.96)	7.71 ± 0.133 (7.41-8.03)
5pm	7.77 ± 0.11 (7.34-7.96)	7.71 ± 0.10 (7.39-7.92)	7.69 ± 0.12 (7.33-7.93)

Continuación

Parámetros	Tratamientos		
	T1(30%)	T2(35%)	T3(40%)
Luminosidad (Klux)			
8am	2.28 ± 1.02 (1.06 -5.6)	2.31 ± 1.08 (1.09 -5.4)	2.30 ± 1.15 (1.13-6.1)
1pm	10.57 ± 3.90 (2.81 -19.30)	10.57 ± 3.58 (2.87 -17.92)	10.10 ± 3.52 (2.68-19.62)
5pm	1.85 ± 1.23 (0.26 -7.67)	1.83 ± 1.23 (0.27 -7.65)	1.78 ± 1.22 (0.28-7.67)
SS (mL/L)	33.3 ± 7.56 (24 -55)	32.7 ± 5.82 (24 -54)	35.9 ± 6.86 (25 -60)
SST (mg/L)	460.61 ± 80.56 (284 -694)	469.62 ± 88.74 (320-752)	489.93 ± 86.5 (312-760)
SSV (mg/L)	358.60 ± 67.05 (242 -654)	372.69 ± 71.65 (216-620)	406.47 ± 62.4 (232-582)
Turbidez (NTU)	247.34 ± 42.31 (152.5 -322.67)	253.23 ± 42.71 (152 -365)	255.88 ± 41.32 (178-350)

OD: Oxígeno disuelto SS: Sólidos sedimentables SST y SSV: Sólidos suspendidos totales y volátiles

FUENTE: Elaboración propia.

Los valores promedio más altos de oxígeno disuelto se registraron a las 8 a.m., variando de 6.81 mg/L a 6.92 mg/L. En cambio los valores promedio más bajos se observaron a las 5 p.m., estos valores fluctuaron entre 6.52 mg/L y 6.65 mg/L. En el caso del pH, las medias más bajas también se presentaron a las 5 p.m. con un rango de 7.69 y 7.77

Respecto a la temperatura, esta tiende a aumentar con el paso del día alcanzando las medias más altas en la tarde (5 p.m.). Los valores promedio más bajos (8 a.m.) variaron entre 27.82 °C y 27.9 °C, y los más altos entre 28.53°C y 28.57°C. La luminosidad también aumentó en la tarde, registrándose los valores más altos a la 1 p.m. En este horario las medias más altas variaron entre 10.10 Klux y 10.57 Klux, mientras que las medias bajas (8 a.m.) variaron entre 2.28 Klux y 2.31 Klux.

En el caso de los SS, las medias variaron entre 32.7 mL/L (T2) y 35.9 mL/L (T3). Debido a que se mantuvo este parámetro entre 30 mL/L a 50 mL/L mediante la remoción de sólidos, los rangos (24-55 mL/L, 24-54 mL/L y 25-60 mL/L en T1, T2 y T3) son similares entre tratamientos.

En relación a los SST, SSV y turbidez; las medias más bajas fueron 460.6 mg/L, 358.6 mg/L y 247.34 NTU, y las medias más altas 489.93 mg/L, 406.47 mg/L y 255.88 NTU respectivamente. Para todos estos parámetros, los promedios más altos correspondieron al T3 y los más bajos al T1.

Los resultados del análisis estadístico ANOVA MR de los parámetros físicos y químicos expuestos en la Tabla 8, son presentados a continuación.

a) Oxígeno disuelto (OD)

Según el análisis estadístico, el factor tratamiento tiene efecto significativo sobre la concentración de OD a las 5 p.m., específicamente en las semanas seis y siete de experimentación ($p < 0.05$). Es decir, existieron diferencias significativas entre los tres tratamientos con respecto a la concentración de OD en el período mencionado. Sin embargo para los horarios de medición de las 8 a.m. y 1p.m., no existieron diferencias significativas entre los tres tratamientos ($p > 0.05$).

Los resultados de la prueba Tukey para la concentración de OD a las 5 p.m. son presentados en la Tabla 9. Las medias en una fila, que no comparten al menos una letra (a, b, c) indican entre que tratamientos se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla 9: Concentraciones promedio de OD (mg/l) registrado a las 5 p.m. y resultados de la prueba Tukey.

Semanas	T1	T2	T3
	Promedio (mg/L)	Promedio (mg/L)	Promedio (mg/L)
1	6.49 (a)	6.44(a)	6.52(a)
2	6.47(a)	6.39(a)	6.37(a)
3	6.47(a)	6.38(a)	6.39(a)
4	6.97(a)	6.88(a)	6.90(a)
5	6.78(a)	6.66(a)	6.67(a)
6	6.71(a)	6.52(ab)	6.33(b)
7	6.68(a)	6.55(b)	6.54(b)
8	6.40(a)	6.41(a)	6.25(a)

FUENTE: Elaboración propia.

En esta tabla se aprecia que la concentración de OD en el T3 fue significativamente menor a la concentración en el T1 ($P < 0.05$) durante las semanas seis y siete. Además en esta última semana, la concentración (6.55mg/L) en el tratamiento T2 también se vuelve significativamente menor que en el T1 (6.68mg/L).

Con respecto al efecto del factor tiempo (semanas), este presentó un efecto significativo sobre la concentración de OD en todos los tratamientos y horarios de medición (8 a.m., 1 p.m. y 5 p.m.) ($p < 0.05$). Esto explica que la concentración de OD no se mantuvo constante con el paso de las semanas, lo cual puede observarse en la Figura 5. En esta figura se presenta la variación de la concentración de OD promedio (promedio de las réplicas de todos los tratamientos) en cada semana de experimentación.

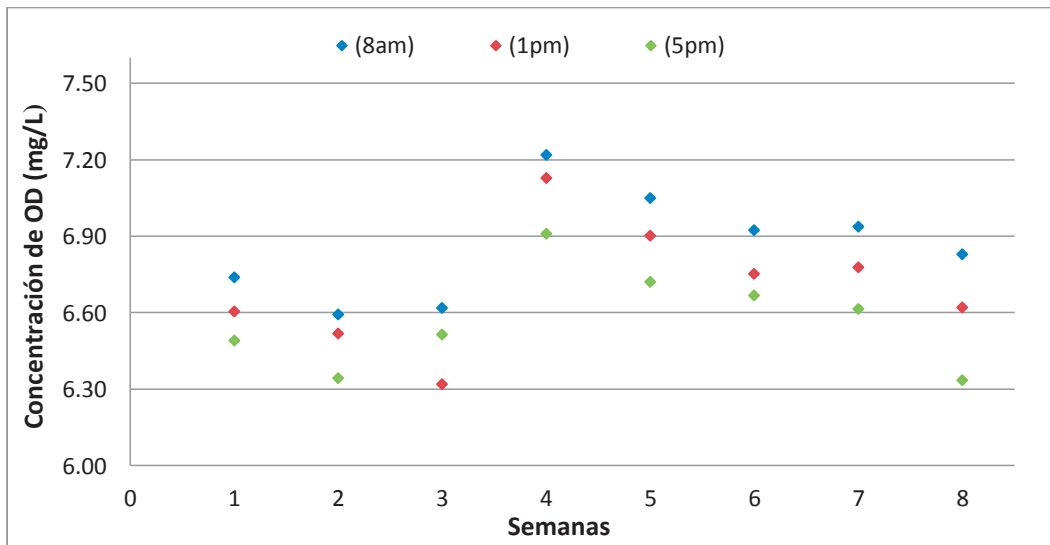


Figura 5: Variación de la concentración promedio semanal de OD (mg/L) del agua durante la fase experimental.

FUENTE: Elaboración propia.

Como se observa, la concentración de OD las primeras tres semanas presenta valores bajos que resultan ser significativamente menores que la concentración en la semana cuatro ($p < 0.05$), durante la cual se alcanzaron las concentraciones más altas. De aquí en adelante la concentración de oxígeno, en general, disminuye siendo los valores de la semana ocho significativamente menores que la concentración en la semana cuatro ($p < 0.05$).

La disminución de la concentración de OD durante el día (Tabla 8) y con el paso de las semanas (Figura 5), estaría relacionada a la temperatura. Esto debido a que la concentración de oxígeno disminuye a medida que la temperatura aumenta en el agua. Las altas temperaturas también incrementan la tasa metabólica del pez y aceleran los procesos metabólicos, resultando en una mayor necesidad de oxígeno. Así mismo el aumento de la concentración de sólidos en el agua, como se discutirá en el subcapítulo 4.1.(e), y de la biomasa de peces representan una mayor demanda de oxígeno y por ende una disminución del mismo con el paso de las semanas.

Como ya se mencionó, los valores máximos de OD (8 a.m.) se presentaron en la semana cuatro y fueron 7.97 mg/L, 7.95 mg/L y 7.81 mg/L en T1, T2 y T3 respectivamente (Tabla 8). Por otro lado las concentraciones mínimas se presentaron en la última semana de experimentación y fueron 5.41 mg/L, 5.33 mg/L y 5.24 mg/L en T1, T2 y T3 respectivamente. Esa misma tarde se alcanzaron las temperaturas máximas cercanas a 30°C (Tabla 8), confirmando la relación de estas bajas concentraciones con el incremento de la temperatura.

Las mínimas concentraciones de OD así como los promedios semanales, se mantuvieron en el rango adecuado para el mantenimiento del sistema BFT y el crecimiento de la tilapia. Avnimelech (2011) menciona que un mínimo valor de 4 mg/L en la concentración de oxígeno puede ser establecido en sistemas BFT. En el caso del cultivo de tilapia, se considera niveles óptimos de OD mayores a 5 mg/L debido a que este valor puede disminuir por reacciones químicas de descomposición de materia orgánica, alimento no consumido, heces, aumento en la tasa metabólica por incremento en la temperatura, desgasificación a la atmósfera cuando la concentración excede la saturación (Castillo 1994 citado por Kingle *et al.* 2000).

Con respecto a la presencia de diferencias significativas del OD a las 5 p.m., las concentraciones promedio entre tratamientos difieren en menos de 1 mg/L (Tabla 9), variando estas medias entre el 80 al 90 por ciento de saturación sin representar un valor crítico para el sistema y los peces.

De lo mencionado anteriormente se puede afirmar que el sistema de aireación mantuvo un adecuado intercambio gaseoso en todos los tratamientos, así la concentración de oxígeno no fue un parámetro limitante durante este estudio.

b) Temperatura

En todos los horarios de medición (8 a.m., 1 p.m. y 5 p.m.) no se presentaron diferencias significativas de la temperatura entre tratamientos ($p>0.05$).

Para el caso del tiempo (semanas), este si presentó un efecto significativo sobre la temperatura en todos los horarios y tratamientos ($p<0.05$). Esta variación de temperatura promedio (promedio de las réplicas de todos los tratamientos) con el paso de las semanas se observa en la Figura 6.

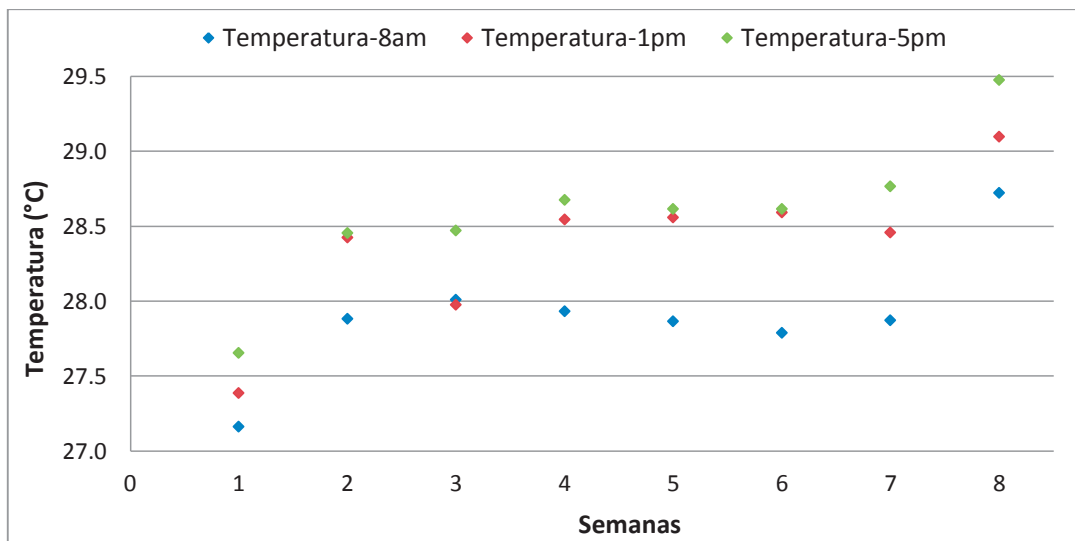


Figura 6: Variación de la temperatura (°C) promedio semanal del agua durante la fase experimental.

FUENTE: Elaboración propia.

En la Figura 6 se aprecia, en general, que la temperatura tiende a aumentar con el paso de las semanas presentándose los valores más bajos en la primera semana. Por otro lado en la semana ocho, la temperatura alcanza los valores más altos de toda la etapa experimental, siendo significativamente mayores a la temperatura en las otras semanas ($p<0.005$).

Las altas temperaturas en la tarde en comparación a la mañana (Tabla 8 y Figura 6), se deben al aumento de temperatura ambiental.

Por otro lado, la presencia de los valores mínimos de temperatura (26.3°C, 26.29 °C y 26.2 °C en T1, T2 y T3 respectivamente) en la primera semana y los valores máximos (30.9 °C, 29.9 °C y 30.1°C en T1, T2 y T3 respectivamente) en la última semana de experimentación están relacionados al aumento de la temperatura ambiental en el transcurso de la etapa experimental. Esto debido al cambio de estación primavera a verano que coincidió con las semanas de experimentación.

Estos valores máximos y mínimos de temperatura así como los promedios semanales, se encuentran en el rango de temperaturas aceptables para el crecimiento de tilapia (26-30°C) (El-Sayed 2006).

Por la inexistencia de diferencias significativas de la temperatura entre tratamientos, podríamos afirmar que este parámetro se mantuvo como una variable independiente tal como se planteó en la metodología.

c) pH

La prueba estadística indica que el factor tratamiento tiene efecto significativo sobre el pH a la 1 p.m., en las semanas 5,6 y 8 ($p<0.05$). En el caso de los valores de pH a las 8 a.m. y 5 p.m., no existieron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$).

Los resultados de la prueba Tukey para el pH a la 1 p.m. son presentados en la Tabla 10. Las medias en una fila, que no comparten al menos una letra (a, b, c) indican entre que tratamientos se presentaron diferencias significativas ($p<0.05$).

Tabla 10: Valores promedio del pH a la 1 p.m. y resultados de prueba Tukey.

Semanas	T1	T2	T3
	Promedio	Promedio	Promedio
1	7.90 (a)	7.86 (a)	7.89 (a)
2	7.79 (a)	7.73 (a)	7.74 (a)
3	7.73 (a)	7.69 (a)	7.69 (a)
4	7.86 (a)	7.82 (a)	7.78 (a)
5	7.85 (a)	7.76 (ab)	7.71 (b)
6	7.85 (a)	7.74 (ab)	7.69 (b)
7	7.73 (a)	7.65 (a)	7.62 (a)
8	7.79 (a)	7.70 (ab)	7.60 (b)

FUENTE: Elaboración propia.

En esta tabla se observa en general que el pH promedio semanal del T1 es mayor en comparación a los otros dos tratamientos, sin embargo las diferencias significativas se presentan en las semanas 5,6 y 8. En estas semanas el pH en el T3 es significativamente menor al T1 ($p<0.05$).

En el caso del tiempo (semanas), este presenta un efecto significativo sobre el pH ($p<0.05$) en todos los horarios de medición. En la Figura 7 se presenta la variación del pH promedio semanal (promedio de las réplicas de todos los tratamientos) para todos los horarios de medición.

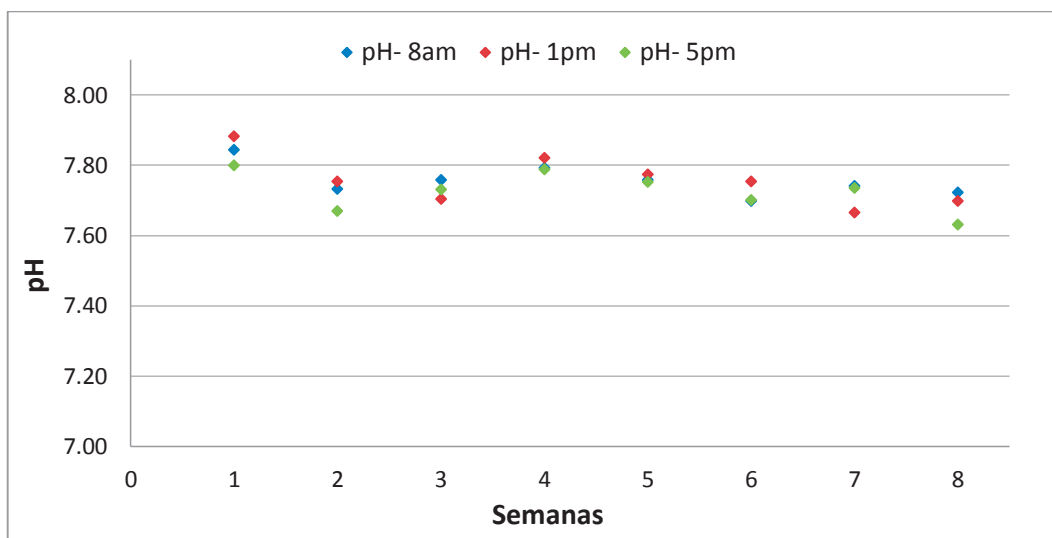


Figura 7: Variación del pH promedio semanal del agua durante la fase experimental.

FUENTE: Elaboración propia.

En esta figura se observa una leve disminución del pH con el paso de las semanas, siendo el pH en la primera semana significativamente mayor a los valores en la semana ocho ($p < 0.05$). El resto de semanas no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$). También se distingue que el pH promedio semanal permaneció entre los valores de 7.6 y 7.9.

Los valores máximos de pH (8.01, 7.96 y 8.03 en T1, T2 y T3 respectivamente) se presentaron en la primera semana de experimentación y alcanzaron un nivel ligeramente alcalino. Por otro lado, en la segunda semana de experimentación se presentaron los valores mínimos de pH (7.34, 7.39 y 7.33 en T1, T2 y T3 respectivamente) manteniéndose estos en un nivel neutro.

Tanto los valores máximos y mínimos de pH, se encuentran en el rango que no afecta el bienestar de la tilapia (El-Sherif y El-feky, 2009). Así también estos valores son similares a los reportados, en distintos trabajos de investigación en sistemas BFT, por autores como Xu y Pan (2013), Schneider *et al.* (2007), Schweitzer *et al.* (2013), Burford *et al.* (2003), Ray *et al.* (2011), Nootong *et al.* (2011) ya que son recomendados para el buen funcionamiento del sistema (Hargreaves, 2013).

En sistemas biofloc tanto la asimilación bacteriana y los procesos de nitrificación reducen la alcalinidad (Ebeling et al. 2006a) Esto aunado a la respiración propia de peces y de diferentes microorganismos que se encuentran en el floc (Ray et al. 2010) generan la fluctuación del pH en el tiempo, al reducir las reservas de alcalinidad del sistema. Para evitar esto, se llevó a cabo la corrección de la alcalinidad que implicó la adición de bicarbonato de sodio para elevar la alcalinidad hasta 100 mg/L en cada unidad experimental. De no haber realizado esta corrección, como es recomendado por varios autores como Vinatea *et al.* (2010), Ray *et al.* (2010) y Hargreaves (2013), los valores de pH hubieran disminuido en las primeras semanas a niveles que hubieran puesto en peligro el bienestar de los alevines cultivados así como la estabilidad de sistema biofloc.

El manejo de la alcalinidad en todos los tratamientos, mantuvo estable el pH durante el día y con el paso de las semanas, lo cual se observa en la Figura 7. Así también la inexistencia de diferencias significativas del pH entre tratamientos (8 a.m. y 5 p.m.), estaría relacionada al control de este parámetro mediante la corrección de la alcalinidad.

Si bien se presentaron diferencias significativas entre tratamientos a la 1p.m., esto solo sucedió en algunas semanas y las diferencias entre los promedios (Tabla 10) fueron menores a 0.5 unidades. Estas pequeñas diferencias no afectaron la estabilidad del sistema entre tratamientos, pues los valores de pH promedio semanal se mantuvieron en un rango neutro y ligeramente alcalino (7.6-7.9) en todos los tratamientos.

d) Luminosidad

En relación a la luminosidad, no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos respecto a los horarios de medición (8 a.m., 1 p.m. y 5 p.m.) ($p>0.05$).

En el caso del tiempo (semanas), este si presentó un efecto significativo sobre la luminosidad ($p<0.05$) a la 1p.m. y 5 p.m. Esta variación de la luminosidad promedio (promedio de las réplicas de todos los tratamientos) durante la experimentación se expone en la Figura 8.

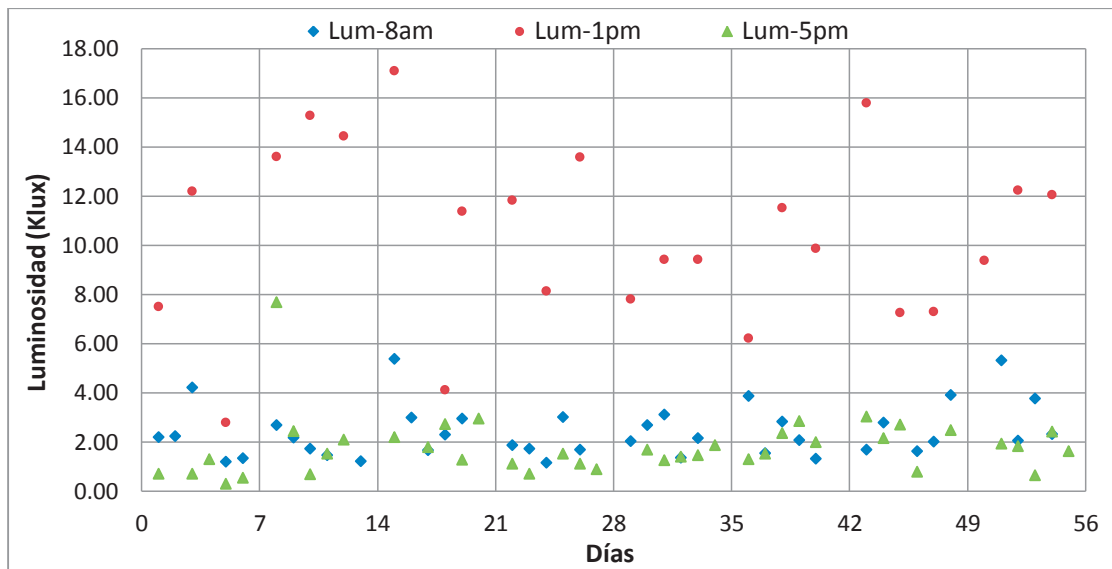


Figura 8: Variación de la luminosidad promedio (Klux) en la superficie del agua durante la fase experimental.

FUENTE: Elaboración propia.

En la Figura 8 y en la Tabla 8 se observa que los promedios más altos de luminosidad se presentan a la 1 p.m. En este horario también se distingue que valores de luminosidad son muy variables y no presentan una tendencia clara con el paso de las semanas, sin embargo si se aprecia que los promedios más altos se presentaron en la semana dos, siendo significativamente mayores que los valores en las semana cinco y ocho ($p<0.05$).

Con respecto a la luminosidad a las 5 p.m., los valores más bajos se presentaron en la primera semana, siendo significativamente menores a los valores de las semanas 3,5 y 7

($p < 0.05$). Por otro lado, la luminosidad en la mañana no fue significativamente distinta entre semanas ($p > 0.05$).

El rango en el que varían los datos de luminosidad a la 1 p.m. (2.68 Klux – 19.62 Klux) es más amplio en comparación a los datos de la mañana (1.06 Klux – 6.1 Klux) y 5 p.m. (0.26 Klux -7.67 Klux) (Tabla 8). Esta mayor dispersión de datos a la 1 p.m. está relacionada a la inconstante intensidad de brillo solar en las tardes, por la transición de primavera a verano que coincidió con las semanas de experimentación.

Otra razón se puede atribuir a las características del invernadero, cuyas paredes laterales estuvieron cubiertas durante toda la experimentación. Esto habría disminuido los niveles de luminosidad dentro del invernadero a las 8 a.m. y 5 p.m. En cambio, a la 1 p.m. el sol se encuentra ubicado cerca al cenit, presentándose una intensidad lumínica alta y directa sobre el invernadero debido a la ausencia de cubierta en el techo.

Con respecto a los valores mínimos de luminosidad (0.26 Klux ,0.27 Klux y 0.22 Klux en T1, T2 y T3 respectivamente) estos se registraron en la primera semana, durante la cual se registraron días con baja luminosidad. Con respecto a los valores máximos (19.3 Klux, 17.92 Klux y 19.62 Klux en T1, T2 y T3 respectivamente), estos se presentaron en la tercera semana debido al alto nivel de brillo solar que iluminó ampliamente el invernadero.

Por otro lado, debido a la inexistencia de diferencias significativas de la luminosidad entre tratamientos, se puede decir que cada unidad experimental estuvo sometida a las mismas condiciones de luminosidad al menos en la superficie de la columna de agua. Se menciona al menos en la superficie, pues la cantidad de materia particulada suspendida reduce la penetración de luz en la columna de agua (Vinatea *et al.* 2010).

e) Sólidos sedimentables (SS), sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV) y turbidez

Los sólidos sedimentables presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$) en las semanas cinco y seis, siendo la concentración en el T3 (35 mL/L y 39 mL/L respectivamente) mayor en comparación al T1 (28.8 mL/L y 32.2 mL/L respectivamente) y al T2 (28.8 mL/L y 33.5 mL/L respectivamente). Además la concentración de SS entre estos dos últimos tratamientos no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$).

Con respecto a los sólidos suspendidos totales, se presentaron diferencias significativas en la semana seis siendo la concentración en T3 (566.8 mg/L) mayor que en T1 (489.6 mg/L) ($p < 0.05$). En relación a los sólidos suspendidos volátiles, la concentración en el T3 (390.9 mg/L y 425.8 mg/L) fue mayor que en el T1 (339.1 mg/L y 373.3 mg/L) en las semanas cuatro y seis ($p < 0.05$), en el resto de semanas no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

A diferencia de los SS, SST y SSV, la turbidez no presentó diferencias significativas entre los tres tratamientos ($p > 0.05$) durante todas la fase experimental.

La inexistencia de diferencias significativas de estos parámetros, en la mayoría de semanas, entre los tres tratamientos está relacionada al control de los sólidos mediante la remoción de estos mismos como se planteó en la metodología. Así también es por este control que los rangos en los que variaron los valores de SST, SSV, SS y turbidez son similares entre tratamientos (Tabla 8).

Por otro lado, el tiempo presentó un efecto significativo sobre los SS, SST, SSV y turbidez ($p < 0.05$). La variación de los valores promedio de estos parámetros durante la experimentación es presentada en la Figura 9.

En esta figura se observa, en general, que los sólidos aumentan con el paso de los días en el T1, T2 y T3; alcanzándose en la última semana las concentraciones máximas de los SST (694 mg/L, 752 mg/L y 760 mg/L respectivamente), SSV (654 mg/L, 620 mg/L y 582 mg/L respectivamente) y Turbidez (322.7 NTU, 365 NTU y 350 NTU respectivamente).

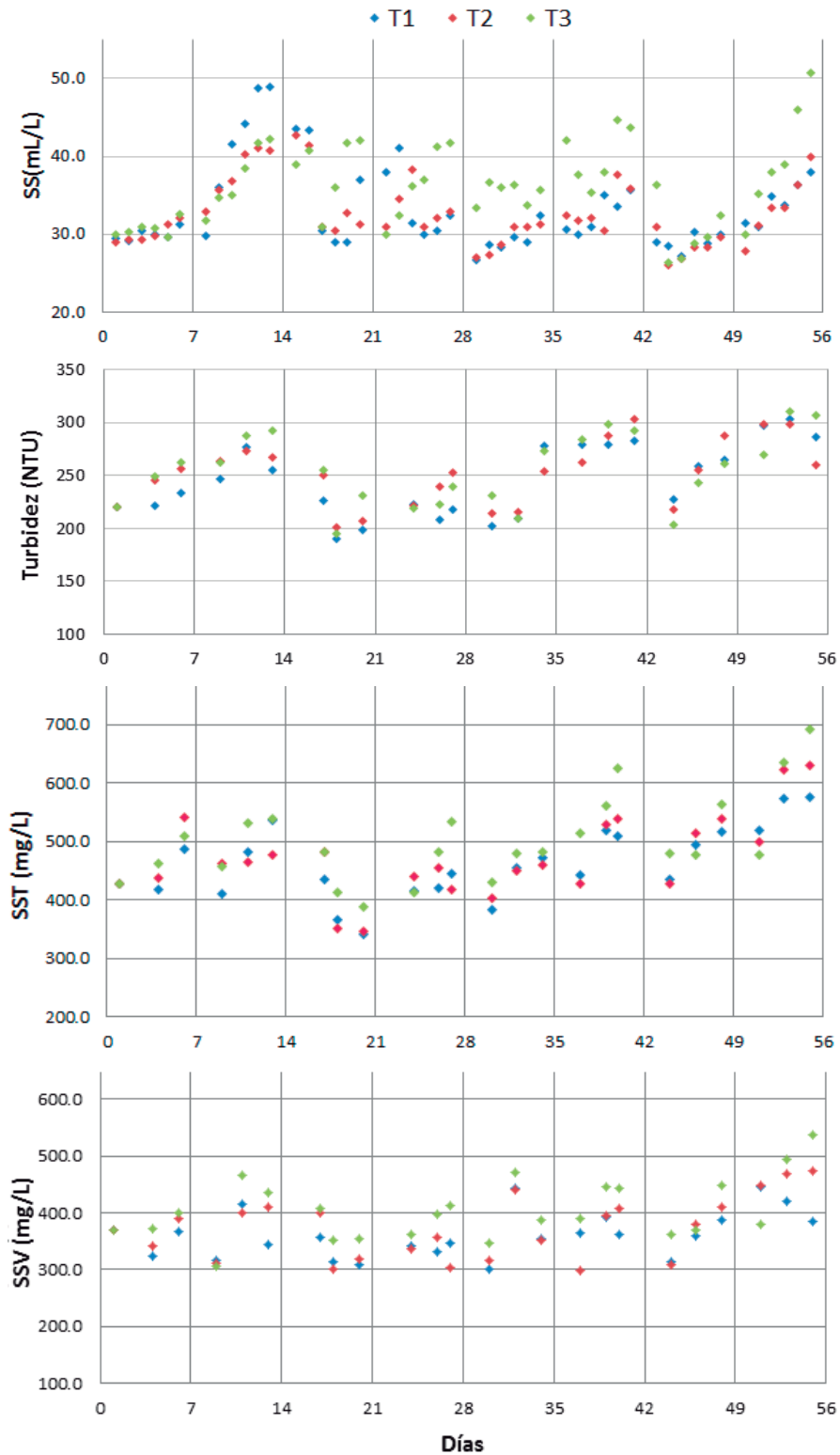


Figura 9: Variación semanal la concentración promedio de SS, SST, SSV y turbidez en los tratamientos durante la fase experimental.

FUENTE: Elaboración propia.

El aumento de los SST, SS, SSV y Turbidez en el tiempo, es explicado por el incremento y continuo ingreso de alimento a las unidades experimentales. Con el alimento ingresan nutrientes (carbono y nitrógeno), que permiten el desarrollo de organismos heterotróficos y autotróficos que son parte del biofloc. Los sólidos también están compuestos de alimento no consumido y aquellas partículas que son insolubles en el agua.

Por otro lado, se observa que los SST disminuyen después de los días de biometrías (días 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56) y remoción de sólidos (días 13, 16 y 42), debido a la pérdida de biofloc durante estas actividades. También se puede apreciar en la Figura 9, que durante la tercera semana sucedió una disminución prolongada de los sólidos, presentándose las concentraciones mínimas de SST, SSV y Turbidez (Tabla 8). Esta disminución estaría relacionada a dos motivos que son explicados a continuación.

Primero, en las semanas dos y tres se llevó a cabo las dos primeras remociones de sólidos (días 13 y 16) extrayéndose fuentes de carbono y nitrógeno (alimento no consumido, microorganismos muertos así como otros constituyentes del biofloc). Esto habría afectado la producción de biomasa microbiana y de otro tipo de organismos (protozoos, hongos y algas) que forman parte del biofloc pues el carbono orgánico en sistemas BFT se usa para la asimilación de la síntesis celular (producción de flocs) y el metabolismo microbiano (Avnimelech 1999, Azim *et al.* 2008).

Segundo, durante las primeras semanas de experimentación la principal fuente de alimento para los peces habría sido el biofloc. Esto debido al proceso de adaptación de los peces al inicio de la experimentación, que pasaron de agua clara a los sistemas BFT siendo incapaces de identificar y consumir el alimento formulado por la alta turbidez. Lo último fue comprobado por la gran cantidad de alimento no consumido en el agua en aquellas fechas.

Entonces, tanto la baja producción de biofloc y el mayor consumo de este por los peces habrían contribuido a la disminución de la concentración de sólidos durante la semana tres. Después de esta fecha los peces se adaptaron al sistema, lo cual fue evidenciado por una considerable menor cantidad de alimento no consumido que al ser extraído en la tercera remoción (día 42) no afectó significativamente a la producción de biofloc.

Por otro lado, la concentración de SS se mantuvo a menos de 50 mL/L mediante la remoción de sólidos pues Hargreaves (2013) mencionó una equivalencia de 25 a 50 mL/L de SS con 300 a 500 mg/L de SST. Sin embargo en nuestro trabajo no se observó esta relación equivalente, ya que en varias semanas se sobrepasaron significativamente los 500 mg/L de SST aún manteniendo los SS entre 30 y 50 mL/L. Schweitzer *et al.* (2013) mencionan que si bien la medición de SS y turbidez son los métodos más prácticos para evaluar el nivel de sólidos, el uso de equivalencias entre los SS y los SST no es totalmente fiable, lo cual es corroborado por los presentes resultados. Estos autores mencionan que la variación de los SS no solo está relacionada a la fluctuación de los SST sino también a otros factores que cambiarían el patrón de sedimentación.

4.2. ASIMILACIÓN Y CONVERSIÓN DE NITRÓGENO AMONIACAL TOTAL (NAT)

4.2.1. NAT Y AMONIACO

En la Tabla 11 se presentan los promedios, desviación estándar y los rangos de la concentración de NAT y amoniacado en el agua, registrados en los tres tratamientos así como los resultados generales de la prueba ANOVA MR para el factor tratamiento.

Tabla 11: Concentración promedio (mg/L) de NAT, amoniacado y resultados de prueba ANOVA MR (Factor tratamiento).

Compuesto nitrogenado	Tratamientos			ANOVA MR Tratamiento
	T1	T2	T3	
NAT (mg/L)	1.8 ± 0.44(a) (1.10 -3.30)	1.95 ± 0.39 (b) (1.20 -3.10)	2.23 ± 0.41(c) (1.30-3.40)	DS
Amoniacado (NH ₃) (mg/L)	0.08 ± 0.024(a) (0.038 -0.14)	0.07 ± 0.021(a) (0.038 -0.12)	0.08 ± 0.029(a) (0.037 -0.16)	-

Promedios ± desviación estándar

Rangos entre paréntesis

DS: Diferencias significativas

FUENTE: Elaboración propia.

La media más alta de la concentración de NAT se presentó en el tratamiento T3 (2.23 mg/L) siendo significativamente mayor que en los tratamientos T2 (1.95 mg/L) y T1 (1.8 mg/L) ($p < 0.05$). Además la concentración de NAT entre estos dos últimos tratamientos también presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Con respecto a la concentración de amoniacado, el menor promedio se presentó en el tratamiento T2 (0.07 mg/L) (Tabla 11), sin embargo no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$).

En el caso del factor tiempo, este no presenta un efecto significativo sobre la concentración de amoniacado ($p > 0.05$) mientras que para la concentración de NAT si se presenta un efecto significativo ($p < 0.05$).

En la Tabla 12 se presentan los resultados específicos de la prueba ANOVA MR, así también se exponen los promedios y los rangos semanales de NAT. En las columnas se comparan las concentraciones de NAT entre semanas para cada tratamiento y en las filas se comparan las concentraciones entre tratamientos en cada semana.

Tabla 12: Valores promedio y rangos semanales de la concentración NAT (mg/L).

Semanas	T1		T2		T3		ANOVA MR Tratamiento
	Promedio (mg/L)	ANOVA MR Tiempo	Promedio (mg/L)	ANOVA MR Tiempo	Promedio (mg/L)	ANOVA MR Tiempo	
1	2.01 (1.1-3.3)	a	1.94 (1.4-2.7)	ab	2.16 (1.3-2.6)	ab	-
2	2.07 (1.5-3.2)	a	2.06 (1.4-3.1)	ab	2.24 (1.8-3.0)	ab	-
3	1.81 (1.1-2.4)	a	2.13 (1.8-2.8)	ab	2.30 (1.7-3.4)	ab	-
4	1.92 (1.5-2.4)	a	1.99 (1.6-2.4)	ab	2.11 (1.6-2.6)	ab	-
5	1.57 (1.2-1.8)	a	1.53 (1.2-1.9)	b	1.86 (1.5-2.3)	b	DS
6	1.57 (1.2-1.9)	a	1.80 (1.5-2.2)	ab	2.22 (1.7-2.8)	ab	DS
7	1.70 (1.2-2.5)	a	1.90 (1.4-2.4)	ab	2.38 (2.0-2.8)	a	DS
8	1.65 (1.3-2.2)	a	2.25 (1.7-2.8)	a	2.59 (1.8-3.2)	a	DS

FUENTE: Elaboración propia.

En este cuadro se observa que en todas las semanas, la mayor y menor concentración promedio de NAT se presenta en el T3 y el T1 respectivamente. No obstante, las diferencias significativas entre estos dos tratamientos se presentan desde la semana 5 en adelante y solo en la última semana la concentración de NAT en T2 es significativamente mayor a la concentración en T1 ($P < 0.05$). Así mismo, existen diferencias significativas entre T2 y T3 desde la semana cinco hasta la semana siete ($P < 0.05$).

Respecto a la comparación entre semanas, se observa que en el tratamiento T1 no se presentaron diferencias significativas en la concentración de NAT durante la experimentación ($p > 0.05$). En cambio en los tratamientos T2 y T3, la concentración de NAT en la semana ocho es significativamente mayor que en la semana cinco ($p < 0.05$).

En la Figura 10 se presenta el diagrama de cajas de las concentraciones NAT y amoniaco para cada tratamiento durante la fase experimental.

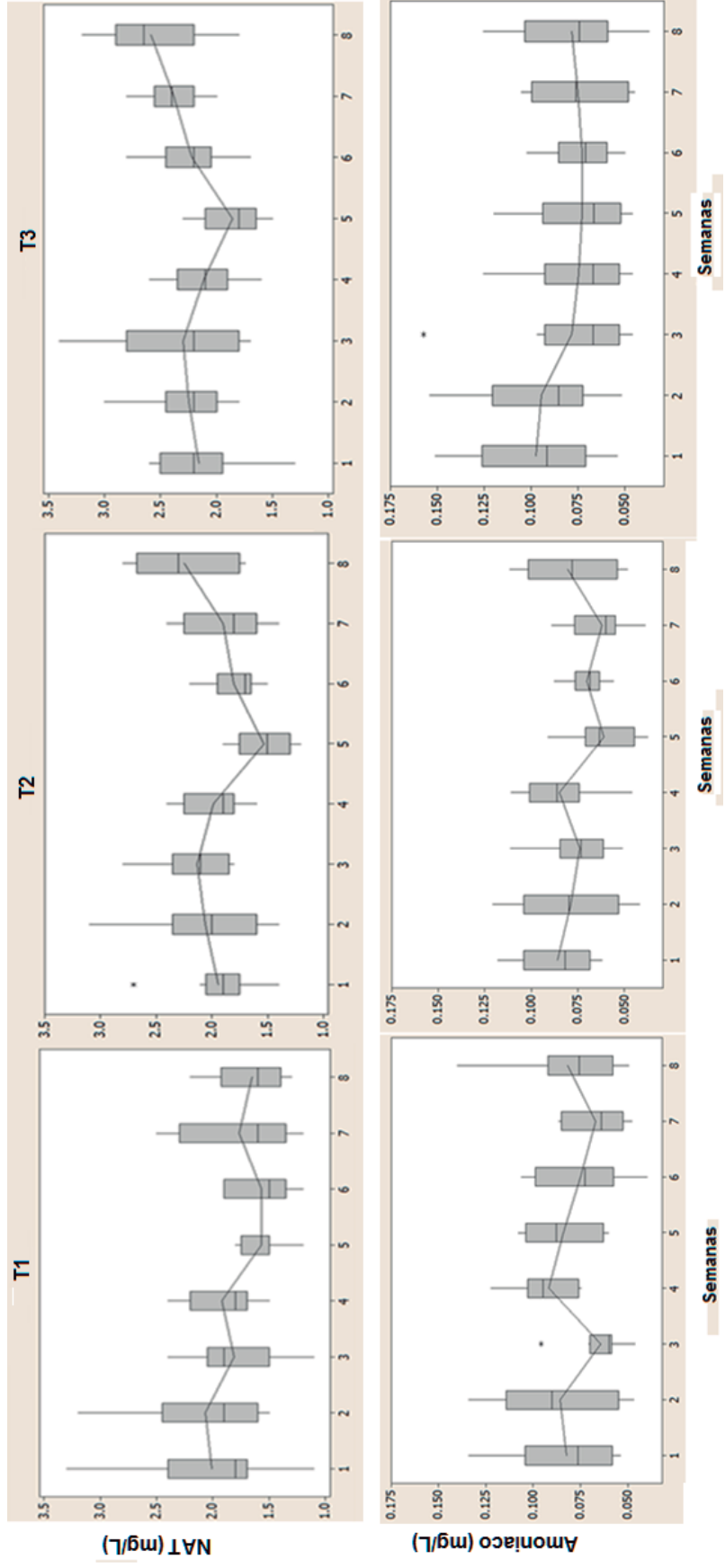


Figura 10: Diagrama de cajas de la concentración de NAT y amoniaco (mg/L) en los tratamientos (T1, T2 y T3) durante la fase experimental.

FUENTE: Elaboración propia.

Si en esta figura se observa la línea que une las medias de los valores semanales de NAT, es apreciable que estos se mantuvieron entre 1.8 y 2.3 mg/L durante el primer mes en todos los tratamientos. También se puede apreciar que durante la semana cinco hay una mayor presencia de concentraciones bajas de NAT en todos los tratamientos, de ahí en adelante en T1 la concentración promedio de NAT no varía mucho, y en el caso de T2 y T3 hay un ligero aumento.

Las concentraciones mínimas de NAT en el T1 (1.1 mg/L) y T3 (1.3 mg/L) se presentaron en la primera semana, y en la semana 5 para el T2 (1.2 mg/L). Por otro lado los valores máximos (3.3 mg/L, 3.1 mg/L y 3.4 mg/L en T1, T2 T3 respectivamente) se presentaron durante las tres primeras semanas de experimentación.

Autores como Ballester *et al.* (2010), Poleo *et al.* (2011), Ray *et al.* (2011), Xu y Pan (2013) y Zhao *et al.* (2014) reportaron bajas concentraciones de NAT (≤ 1.0 mg/L) en sistemas BFT en comparación a lo alcanzado en la este experimentación. Esta diferencia se debería a la relación C/N utilizada en los trabajos mencionados (15-20), que fue mayor a lo usado en este estudio (10.8), generando la mayor producción de bacterias heterotróficas y por ende menores concentraciones de NAT.

Con respecto al amoníaco, en la Figura 10 se observa que la concentración promedio varió entre 0.06 mg/L y 0.09 mg/L. También se aprecia que las concentraciones más bajas midieron 0.038 mg/L en T1 y T2, y 0.037 mg/L en T3. Mientras que las concentraciones más altas fueron 0.14 mg/L 0.12 mg/L y 0.16 mg/L en T1 (semana ocho), T2 (semana dos) y T3 (semana tres) respectivamente.

Las concentraciones máximas de amoníaco son menores al nivel seguro (0.42 mg/L de NH_3) para alevines de tilapia *O. niloticus* (Benli y Köksal 2005) por lo que no afectaron el bienestar de esta especie. Este nivel habría sido sobrepasado si se hubieran alcanzados concentraciones de NAT mayores a 9 mg/L, ya que en las condiciones de la presente experimentación (pH y temperatura promedio máximo de 7.81 y 28.57°C respectivamente) el 4.4% de NAT está en forma de amoníaco (Anexo 9). Este valor está por encima de las concentraciones máximas de NAT en todos los tratamientos, por lo tanto no alcanzaron niveles tóxicos para la tilapia.

4.2.2. NITRITOS Y NITRATOS

En la Tabla 13 se presentan los promedios, desviación estándar y los rangos de la concentración de nitritos (N-NO₂) y nitratos (N-NO₃) en el agua, registrados en los tres tratamientos así como los resultados generales de la prueba ANOVA MR para el factor Tratamiento.

Tabla 13: Concentración promedio de nitritos, nitratos (mg/L) y resultados de prueba ANOVA MR (Factor tratamiento).

Compuesto nitrogenado	Tratamiento			ANOVA RM Tratamiento
	T1	T2	T3	
N-NO ₂ (mg/L)	0.089 ± 0.03(a) (0.05 - 0.19)	0.087 ± 0.02(a) (0.05 - 0.14)	0.094 ± 0.03(a) (0.04 - 0.23)	-
N-NO ₃ (mg/L)	84.6 ± 35.69(a) (39 - 209)	86.59 ± 33.61(a) (33 - 173)	93.61 ± 37.58(a) (41 - 212)	-

Promedios ± desviación estándar

Rangos entre paréntesis

DS: Diferencias significativas

FUENTE: Elaboración propia.

La menor media de la concentración de nitritos se presenta en el tratamiento T3 (0.094 mg/L) y la media mayor se presenta en el T2 (0.08 mg/L). Con respecto a la concentración de nitratos, el promedio más alto se presenta en el tratamiento T3 (93.61mg/L) y el más bajo se presenta en el T1 (84.6 mg/L). Sin embargo para ambos compuestos, la prueba estadística explica que el tratamiento no tiene efecto significativo en la concentración de estos compuesto, es decir no existen diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$)

En el caso del tiempo, este presentó un efecto significativo sobre la concentración de los nitratos mas no sobre los nitritos ($p < 0.05$). Esto indica que este último compuesto se mantuvo sin una variación significativa con el paso de las semanas.

La variación de la concentración de nitratos durante la experimentación se puede observar en la Tabla 14, donde se presentan los promedios y los rangos semanales de la concentración de nitratos.

Tabla 14: Valores promedio y rangos semanales de la concentración nitratos (mg/L).

Semanas	T1	T2	T3
1	73.0 (58-100)	75.8 (51-103)	83.2 (64-99)
2	73.58 (42-93)	80.3 (59-113)	79.0 (51-114)
3	68.7 (49.108)	73.8 (53-105)	76.0 (41-136)
4	60.7 (47-78)	63.2 (49-78)	68.8 (54-85)
5	64.8 (39-111)	62.0 (33-100)	67.3 (56-85)
6	98.7 (59-146)	101.2 (57-173)	133.8 (88-212)
7	151.3 (113-209)	146.2 (106-169)	137.0 (100-185)
8	86.8 (65-118)	92.0 (81-104)	108.8 (78-142)

FUENTE: Elaboración propia.

En la Tabla 14 se distingue que los rangos en los que varían los valores de nitratos son similares entre tratamientos hasta la quinta semana. Desde la semana seis la concentración de nitratos aumenta en todos los tratamientos, llegando a ser significativamente mayor que la concentración en las semanas cuatro y cinco ($p < 0.05$). Así mismo, la concentración en la semana siete es significativamente mayor que en las primeras cinco semanas ($p < 0.05$).

En la Figura 11 se presenta el diagrama de cajas de las concentraciones de Nitritos y Nitratos en los tres tratamientos durante las 8 semanas de experimentación. En esta figura se distingue que las concentraciones de nitritos presentan rangos y fluctuaciones similares entre tratamientos, lo mismo sucede con los nitratos indicando la inexistencia de diferencias significativas entre tratamientos.

Con respecto a la concentración promedio de nitritos, se observa que esta tiende a aumentar hasta la semana tres en todos los tratamientos, alcanzando las concentraciones máximas de 0.19 mg/L, 0.14 mg/L y 0.23 mg/L en T1, T2 y T3 respectivamente (Tabla 13).

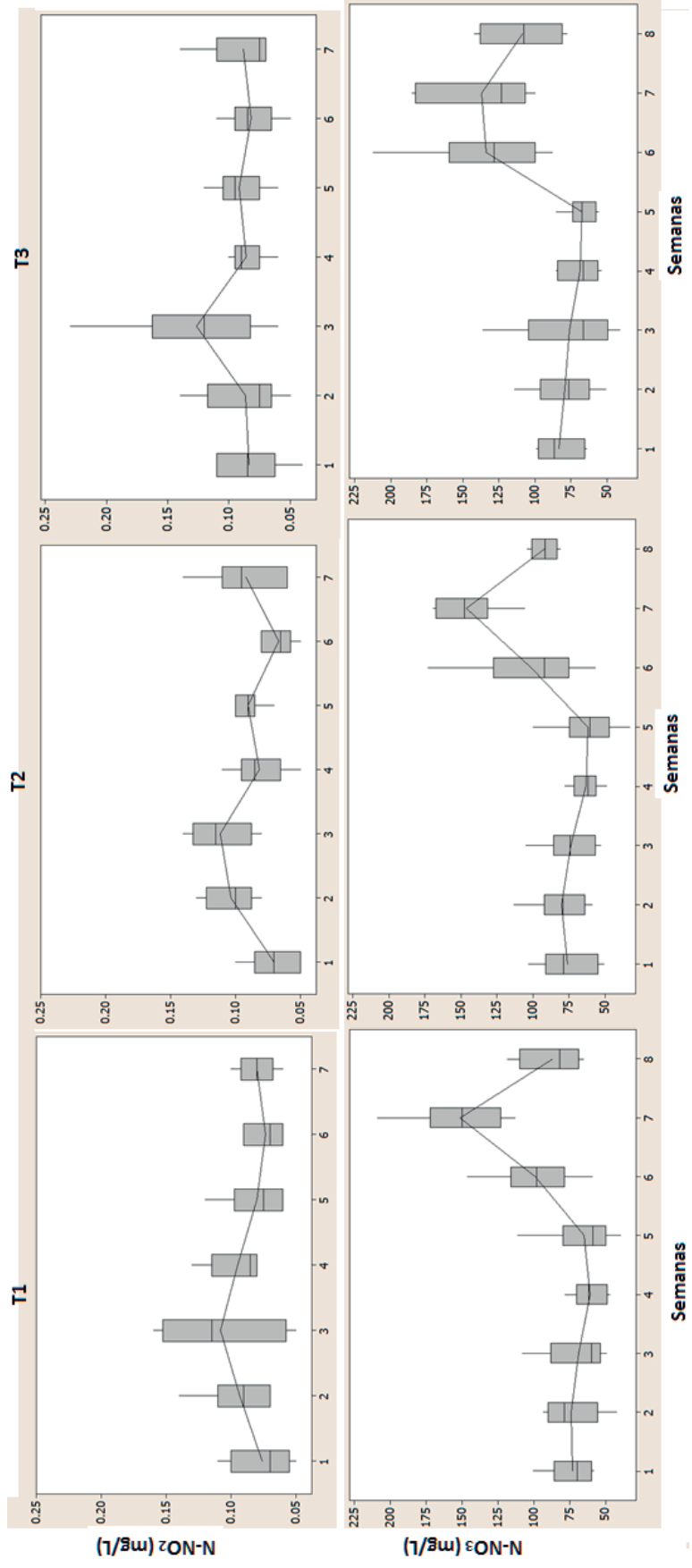


Figura 11: Diagrama de cajas de la concentración nitritos y nitratos (mg/L) en los tratamientos (T1, T2 y T3) durante la fase experimental.

FUENTE: Elaboración propia.

En el caso de nitratos se observa que la concentración promedio se mantiene en bajos niveles hasta la semana cinco, a partir de la cual se presenta el ya mencionado aumento en la concentración de este compuesto.

Esta acumulación de nitratos es común en sistemas BFT. Autores como Azim y Little (2008), Poleo et al. (2011), Ray et al. (2011), Schweitzer et al. (2013), Zhao et al 2014 quienes trabajaron con bioreactores estables y otros como Azim *et al.*(2008), Nootong *et al.* (2011), y Xu y Pan (2013) que trabajaron con bioreactores en etapa de estabilización, reportaron la acumulación de nitratos sin llegar a valores que pudieran afectar a la especie cultivada.

Con respecto a las mínimas concentraciones de nitratos, estas se presentaron en la semana tres (41 mg/L en el T3) y 5 (39 mg/L y 33 mg/L en T1 y T2 respectivamente) y las máximas en las semanas seis (173 mg/L en T2 y 212 mg/L en T3) y siete (209 mg/L en T1).

En todos los tratamientos la concentración máxima de nitratos (N-NO₃) se mantuvo por debajo del nivel que afectan el consumo de alimento en tilapias el cual es igual o mayor a 600 mg/L (Rakocy et al. 2000). Así también los valores máximos de nitritos (N-NO₂) en todos los tratamientos se encuentran debajo de 5 mg/L que es el nivel tóxico para tilapia (Rakocy 1989, Losordo 1997).

La concentración promedio de NAT y nitritos durante las ocho semanas, y en el caso de nitratos las primeras 5 semanas, fueron similares a las alcanzadas en la última parte de la etapa de estabilización de los bioreactores (etapa pre-experimental). Estos valores también son similares a los presentados en el trabajo de Mejía (2014) en un bioreactor ya estabilizado con una densidad de 3 Kg/m³ de juveniles de tilapia y manejado a una relación C/N mayor a 10.

El hecho que las concentraciones de estos compuestos se mantuvieron estables y bajas fue un indicador de la asimilación heterotrófica que se llevó a cabo en todos los tratamientos (Ebeling y Timmons 2008). Otra evidencia de la actividad de estas bacterias, fue la presencia de heces y material orgánico en descomposición como parte de los flocs

al ser observado al microscopio. Así también las algas y bacterias nitrificantes formaron parte de la transformación y dinámica del nitrógeno en el agua durante la experimentación, lo cual no es inusual en este tipo de sistemas (Avnimelech 2006, Hargreaves 2013, Luo *et al.* 2014).

La actividad de las bacterias nitrificantes fue comprobada por la presencia de nitritos y nitratos así como el consumo de alcalinidad (Ebeling *et al.* 2006b). Mientras que la presencia de las algas fue notoria por la eventual coloración verdosa en el agua de las unidades experimentales, como se observa en la Figura 12, y en los filtros de fibra de vidrio durante la prueba de SST.



Figura 12: (a) Coloración inicial del agua en todas las unidades experimentales y (b) Coloración verdosa presente en algunas semanas.

FUENTE: Elaboración propia.

La relativa importancia de cada proceso (nitrificación, asimilación heterotrófica y algal) dependen de muchos factores tales como la tasa de alimentación diaria, concentración de amoníaco, intensidad de la luz, la concentración de sólidos suspendidos y la relación C/N (Hargreaves 2013). Estos dos últimos serían los principales factores que habrían afectado la interacción o predominancia de los procesos de control de compuestos nitrogenados inorgánicos en la presente experimentación.

Respecto al efecto de los sólidos suspendidos, las altas concentraciones alcanzadas las últimas semanas, explicado en subcapítulo 4.1.5, habrían generado una mayor actividad

de las bacterias nitrificantes por la mayor disponibilidad de sustrato (Burford et al. 2003, Hargreaves 2006, Ray et al. 2011). Schweitzer *et al.* (2013) realizaron un estudio con diferentes concentraciones de sólidos en el cultivo de langostino y hallaron que la tasa de nitrificación fue más alta en tanques con concentraciones de SST por encima de 400 mg/L en comparación a tanques que se mantuvieron en 200 mg/L por medio de la remoción continua de sólidos. Esto guarda relación con los presentes resultados, en los cuales el segundo mes se presentó el aumento de la concentración de nitratos así como también se alcanzaron valores promedio de SST mayores a 500 mg/L.

Así mismo, la turbidez generada en esas semanas habría disminuido los niveles de luminosidad en la columna de agua, afectando la fotosíntesis y por ende la producción de fitoplancton que tienen la capacidad de asimilar nitratos (Vinatea *et al.* 2010). Entonces la posible mayor actividad de las bacterias nitrificantes y/o la disminución de la tasa de captación de nitratos por el fitoplancton, serían razones de la acumulación de nitratos las últimas semanas de experimentación. Para evitar la presencia de concentraciones tóxicas de este compuesto para los peces, es indispensable llevar a cabo la remoción de sólidos con cierta frecuencia evitando así que los nitratos se acumulen (Ray *et al.* 2010, Hargreaves 2013).

Por otro lado, el turno de predominancia de las bacterias nitrificantes sobre las heterotróficas y viceversa podría estar relacionada también a la variación de la relación C/N. Ebeling y Timmons (2008) indican que con un alimento de 35 por ciento de proteína, con proporción C/N aproximadamente de 9, el 64 por ciento del nitrógeno es convertido por las bacterias nitrificantes.

En el caso del presente estudio, la relación C/N de 10.8 se encuentra en el límite inferior del rango (10-20) considerado adecuado para el mantenimiento del sistema BFT y es posible que en algún momento esta proporción haya disminuido a menos de 10. Esto habría retrasado o disminuido la descomposición bacteriana de los desperdicios resultando en la acumulación de nitratos y el ligero aumento de la concentración promedio de NAT (Ballester *et al.* 2010, Gong *et al.* 2011), por un mayor nivel de nitrificación, en los tratamientos T2 y T3 las últimas semanas.

El NAT en el T1 se mantuvo constante con el paso de las semanas lo que podría ser debido a que en este tratamiento la proporción C/N era parte del alimento y no habría variado con el paso de las semanas. En cambio en T2 y T3, la cantidad de carbono adicionado a través de la melaza para llegar a la relación C/N 10.8 dependió de una ecuación teórica, estando más expuestos estos tratamientos a la variación de la cantidad de carbono y por ende a la disminución de la relación. Si se hubiera trabajado con una relación C/N más alta, es posible que el riesgo de caer a valores por debajo del rango adecuado hubiera sido menor. En el otro extremo, usar relaciones C/N muy altas tiene desventajas como el alto consumo de oxígeno por la descomposición de la materia orgánica (Luo *et al.* 2013).

Si bien usar la proporción C/N del alimento en el T1, podría implicar la dependencia del paso y excreción de los carbohidratos adicionados a través del pez para finalmente ser usados por las bacterias (Avnimelech (2011), en este tratamiento la concentración de NAT se mantuvo baja y constante el paso de las semanas. Mientras que en el T2 y T3, el uso de la melaza resultaría, por su fácil disolución, en la liberación rápida del carbono existiendo un mayor nivel de sustrato para que las bacterias heterotróficas metabolizaran el amoníaco (Serra *et al.* 2015), sin embargo su efecto sobre el NAT no fue significativo en comparación a T1.

Esto indica que más importante que el tipo de sustrato o fuente de carbono a usar en el sistema BFT, es mantener la adecuada relación C/N en el sistema. Con esto se mantendrían bajos niveles de compuestos nitrogenados inorgánicos por medio, principalmente, de la asimilación heterotrófica que es más eficiente en comparación a la nitrificación y a la asimilación de las microalgas (Hargreaves 2006).

4.3. CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA

En la Tabla 15 se presentan los promedios y desviación estándar de los parámetros de crecimiento de los peces cultivados en cada tratamiento después de los 55 días de cultivo. En esta tabla también se presentan los resultados de las pruebas estadísticas; ANOVA de un factor para la Ganancia de biomasa y H de Kruskal Wallis para la Supervivencia.

Tabla 15: Parámetros de crecimiento de alevines de tilapia del Nilo durante la etapa experimental.

Parámetros	Tratamientos			Comparación entre tratamientos
	T1	T2	T3	
Biomasa inicial (g)	121.5 ± 2.7	125.6 ± 3.87	121.0 ± 6.77	
Biomasa Final (g)	507.8 ± 18.2	686.9 ± 27.98	778.7 ± 63.21	
Ganancia de biomasa (GB) (g)	386.3 ± 20.5(a)	561.3 ± 25(b)	657.1 ± 57.8 (c)	DS
Supervivencia (%)	81.3 ± 2.0(a)	80.7 ± 0.67(a)	81.1 ± 0.38(a)	-

Promedios ± desviación estándar

DS: Diferencias significativas

FUENTE: Elaboración propia.

En esta tabla se observa que la mayor Biomasa final (778.7 g) y Ganancia de biomasa (657.1 g) se alcanzó en el T3. Estas diferencias entre tratamientos son consideradas significativas por la prueba estadística, siendo la GB en el T1 menor que en los tratamientos T2 y T3 ($p < 0.05$).

Respecto a la supervivencia, el menor porcentaje promedio se presentó en el T2 (80.7 %), sin embargo no existió diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$).

De lo expuesto en la Tabla 15, se distingue que el crecimiento de los alevines habría sido afectado directamente por el porcentaje de proteína del alimento entregado, el cual fue 40 por ciento en el T1, 35 por ciento en T2 y 30 por ciento en T3. Así, el nivel de proteína usado en el T3 fue el más cercano al rango óptimo para alevines de Tilapia en sistemas de cultivo convencionales (de 40 por ciento a 45 por ciento), presentándose un mejor *performance* de los peces en este tratamiento en comparación al T1.

Sin embargo son varios los autores quienes reportan que el crecimiento de especies como tilapia y langostino en sistemas BFT no fue afectado significativamente por usar alimento formulado con menor porcentaje de proteína que el requerido para la etapa de desarrollo de la especie. McIntosh (2000), citado por Xu *et al.* (2012) indica que un bajo nivel de proteína dietaria podría ser compensado por la ingestión de bioflocs permitiendo disminuir el contenido de proteína del alimento formulado.

En el caso específico de tilapia, Azim y Little (2008) alimentaron individuos (80 g -120 g) con 35 y 24 por ciento de proteína en el alimento en sistemas BFT (C/N=20), sin presentarse diferencias en el crecimiento a estos dos niveles de proteína. Así también Kubitzka (2011) investigó el crecimiento de alevines de 7 g, alimentados con dos niveles de proteína (36 y 40 por ciento) a una relación C/N de 20. Con ambos niveles de proteína, los peces llegaron a pesar de 22 a 25 g en 42 días, permitiendo esto una reducción en el 30 por ciento de los costos en el caso de alimento de 36 por ciento de proteína. No obstante, no hay información disponible que compare la disminución en más del 5 por ciento de proteína dietaria requerida para alevines de peso aproximado a 0.8 g, que es el promedio con el que se inició la etapa experimental.

De los trabajos mencionados, se aprecia que un factor común es la alta proporción C/N (15- 20) que es mayor a la relación usada en la presente experimentación (10.8). Como se discutió en el subcapítulo anterior, esta relación C/N no habría inhibido en gran porcentaje a las bacterias nitrificantes en todos los tratamientos. Esto ocasionó la considerable conversión de nitrógeno a nitratos por las bacterias nitrificantes en vez de ser convertido en su totalidad a proteína microbiana por las bacterias heterotróficas (Yao *et al.* 2013).

Entonces es posible que en la presente experimentación los bioflocs, en todos los tratamientos, no tuvieran altos niveles de proteína similares a los reportados por autores como De Schryver y Verstraete 2009, y Wang *et al.* (2015) quienes trabajaron con relaciones C/N más altas. Así, aunque la nitrificación en un sistema BFT es adecuado para el control de la calidad de agua, no lo es para reutilizar el nitrógeno (Luo *et al.* 2013). Esto afectó a todos los tratamientos pero especialmente al T1, en el cual hubo de un 10 a 15 por ciento de proteína dietaria que compensar mediante la proteína del biofloc.

Con respecto a la supervivencia promedio, los resultados son cercanos a los obtenidos por Cedano-Castro *et al.* (2013), quienes cultivaron tilapia de peso inicial de 110.0 g en sistema BFT alcanzando 86.5 por ciento de supervivencia en un periodo de seis meses. Otros autores que trabajaron con tilapia en este mismo sistema alcanzaron niveles más altos; Luo *et al.* (2014) cultivó por 70 días, tilapias de 24 g alcanzando 100 por ciento de supervivencia aproximadamente. Así mismo Kubitza (2011) alcanzó 99 por ciento de supervivencia después de 42 días de cultivo de individuos de peso inicial de 7.3g. Este autor también trabajó con tilapias de 32 g durante 70 días y alcanzó 91 por ciento de supervivencia indicando que más del 70 por ciento de mortalidad podría estar más relacionada al manejo que a las condiciones del experimento.

En el presente caso, la supervivencia habría sido afectada principalmente por la susceptibilidad de los peces en etapa de alevinaje a la manipulación durante las biometrías semanales como parte de un experimento paralelo. Esto evidenciado por la presencia de la mayor cantidad de peces muertos, de cada semana, al día siguiente de haberse realizado las biometrías. También el estrés del pez por el paso de agua del biofloc a agua clara y luego al volver al tanque con biofloc habría agudizado este problema.

Otra de las razones que podrían haber afectado la supervivencia de algunos alevines, sería la alta concentración de sólidos en el medio que puede ocasionar la oclusión de las branquias impidiendo el acceso al oxígeno (Azim y Little, 2008, Ray *et al.* 2011). En varias semanas de experimentación se alcanzaron concentraciones de SST mayores a 500 mg/L que es el nivel máximo recomendado para el cultivo de tilapia (Samocho *et al.* 2007, Azim y Little 2008, Hargreaves 2013).

V. CONCLUSIONES

1. Los valores de oxígeno, pH y temperatura se mantuvieron en niveles adecuados para el sistema BFT y el cultivo de tilapia. Mientras que los valores de luminosidad permitieron la producción de fitoplancton en los sistemas, llegando a ser en algunas semanas notoria por el cambio de coloración del agua de marrón a verde.
2. El nitrógeno inorgánico disuelto (NAT, N-NO₂ y N-NO₃) permaneció en concentraciones por debajo de los niveles tóxicos para el cultivo de tilapia en todos los tratamientos debido al control de este por las bacterias heterotróficas, nitrificantes y el fitoplancton.
3. Las bajas concentraciones de NAT fueron similares entre todos los tratamientos durante el primer mes de experimentación, independientemente del porcentaje de proteína en el alimento en T1 (30%), T2 (35%) y T3 (40%).
4. El mantener relaciones C/N cercanas a 10, mediante la Estrategia 2 (Estimación teórica de la cantidad de melaza a adicionar) genera la posibilidad que esta proporción, eventualmente disminuya por debajo del rango óptimo para el crecimiento de bacterias heterotróficas. Esto se transcribió en un ligero aumento de NAT durante el segundo mes en el T3 y T2, siendo mayores que la concentración en el T1.

5. El usar la proporción C/N del alimento (Estrategia 1) resultó ser adecuado para controlar los niveles de NAT y evitar gastos por la compra de fuentes de carbono adicionales como la melaza.

6. La proteína microbiana (proteína del biofloc) no compensó el alto requerimiento proteico de los alevines, lo cual afectó la ganancia de biomasa de peces principalmente en el T1 en el cual se usó alimento de 30 % de proteína. En el caso de la supervivencia, los niveles fueron aceptables.

VI. RECOMENDACIONES

- Llevar a cabo el manejo de sólidos tomando como referencia la medición de parámetros como la turbidez, ya que los SS son muy variables y no siempre están relacionados directamente con los SST. Esto podría llevarnos a subestimar o sobrevalorar el verdadero nivel de sólidos en el sistema de cultivo.
- Usar un alimento de 30 por ciento de proteína (C/N =10.8) como única fuente de carbono en sistemas BFT permite mantener bajos y estables los niveles de metabolitos tóxicos como el amoníaco y los nitritos, pudiendo ser usado para etapas de mediano requerimiento proteico (30-35%) de la tilapia como por ejemplo juvenil. Esto significaría menores costos en alimento y fuentes externas de carbono.
- Evaluar el crecimiento en la etapa de alevinaje (0.8g – 7g) con la Estrategia 2, disminuyendo el porcentaje de proteína del alimento ($\leq 5\%$) y adicionando melaza como fuente externa de carbono. Así se alcanzarían altas proporciones C/N (15-20) que podrían compensar, por medio de la producción de proteína microbiana, la disminución de proteína del alimento.
- Evaluar en qué grado se ve afectado el crecimiento de alevines de tilapia a diferentes niveles de sólidos suspendidos y hallar un nivel óptimo para el cultivo de esta especie en sistemas BFT.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU, N.; MOHD, N.; LANANAN, F.; ABDUL S.; LAM, S.; JUSOH, A. 2015. Optimization of C/N ratios for nutrient removal in aquaculture system culturing African catfish, (*Clarias gariepinus*) utilizing Bioflocs Technology. International Biodeterioration & Biodegradation. Sin publicar.

APHA. 1998. Standard methods for the examination of the water and wastewater. 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC.

AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/Nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture. 176: 227-235.

AVNIMELECH, Y., 2006. Bio-filters: the need for a new comprehensive approach. Aquacultural Engineering. 34:172–178.

AVNIMELECH, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. Aquaculture. 264: 140-147.

AVNIMELECH, Y.: VERDEGEM, M.; KURUP, M.; KESHAVANATH, P. 2008. Sustainable land-based aquaculture: Rational utilization of water, land and feed resources. Mediterranean Aquaculture Journal. 1: 45-55

AVNIMELECH, Y. and KOCHBA, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using ¹⁵N tracing. Aquaculture. 287: 163-168.

AVNIMELECH, Y. 2011. Tilapia production using biofloc technology (BFT). Better science, better fish, better live: Proceedings of the ninth international symposium on tilapia in aquaculture. 6:362.

AVNIMELECH, Y. 2012. Biofloc technology. A practical guide book. 2nd ed. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana. US.

AZIM, M.; 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.

AZIM, M.; LITTLE, D.; BRON, J. 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. Bioresource Technology. 99: 3590-3599.

BALLESTER, E.; ABREU, P.; CAVALLI, R.; EMERENCIANO, M.; DE ABREU, L.; WASIELESKY, W. 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. Aquaculture Nutrition. 16:163-172.

BALOI, M.; ARANTES, R.; SCHVEITZER, R.; MAGNOTTI, C.; VINATEA, L. 2013. Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying level of light exposure. Aquacultural Engineering. 52: 39-44.

BENLI, A.; KÖKSAL, G. 2005. The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae and fingerlings. Turk Journal of Veterinary and Animal Sciences. 29: 339-344.

BORROVICH, E. 2010. Efecto de la Temperatura y aireación constante sobre el crecimiento y la sobrevivencia de alevines de *Oreochromis niloticus* (tilapia gris) y *Oreochromis spp.* (tilapia roja) durante la inversión sexual. Tesis Ing. Pesquero. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 79 p.

BOYD, C.E. 1979. Water quality in warm water fish ponds. Auburn University Agricultural Experimental Station, Auburn, US .359p.

BURFORD, M.; THOMPSON, P.; MCINTOSH, R.; BAUMAN, R.; PEARSON, D. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*. 219: 393-411.

CAMACHO, R. 2012. Evaluación de tres niveles de harina de subproducto de calamar gigante (*Dosidiscus gigas*), en dietas para alevines de tilapia roja (*Oreochromis spp*). Tesis Ing. Zootecnista. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 74p.

CEDANO-CASTRO, M.; LUJAN-BULNES, A.; SUÁREZ-MARIN, H. 2013. Crianza de *Oreochromis niloticus* var Chitralada en sistema biofloc en la empresa PRODUMAR SA, Guayaquil (Ecuador). *REBIOLEST (Revista Científica de Estudiantes)*. 1(2): 79-98.

CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*. 270:1-14.

CRAB, R.; KOCHVA, M.; VERSTRAETE, W.; AVNIMELECH, Y. 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquacultural Engineering*. 40:105-112.

DE SCHRYVER, P.; CRAB, R. DEFOIRDT, T.; BOON, N. and VERSTRAETE, W. 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture*. 277: 125-137.

DE SCHRYVER; VERSTRAETE, W. 2009. Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*. 100: 1162-1167.

EBELING, J.M.; TIMMONS, M.B.; BISOGNI, J. 2006a. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*. 257: 346-358.

EBELING, J.; TIMMONS, M.; BISOGNI, J. 2006b. An engineering analysis of the stoichiometry of autotrophic, heterotrophic bacterial control of ammonia–nitrogen in zero-exchange production. (En línea). Consultado 25 Agosto 2014. Disponible en: <http://ag.arizona.edu/azaqua/ista/ISTA7/RecircWorkshop/Workshop%20PP%20%20%26%20Misc%20Papers%20Adobe%202006/7%20Biofiltration/Microbial%20Floc%20Systems/2006%20Roanoke%20-%20Stoichimetry%20%26%20Exper%20-%20Ebeling.pdf>

EBELING, J.M. and TIMMONS, M.B. 2008. Carbon: nitrogen balance impacts nitrogen removal processes in microbial-based aquaculture systems. *Global Aquaculture Advocate*. 11: 38-40.

EL-SAYED, AF. 2006. *Tilapia culture*. London, UK. CABI Publishing. 278 p.

EL-SHERIF, M.; EL-FEKY, A. 2009. Performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. I. Effect of pH. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 297–300.

EMERENCIANO, M; GAXIOLA, G; CUZON, G. 2013. Biofloc technology: A review for aquaculture application and animal food industry. Chapter 12. InTech.

ESCALANTE, U. 2009. Evaluación del efecto de la harina gelatinizada de maca (*Lepidium peruvianum*) en dietas de alevines de tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) criados bajo dos densidades de cultivo. Tesis Ing. Pesquero. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 96p.

EYHERABIDE, M.; SAINZ, H.; BARBIERI, P.; ECHEVERRIA, H.2014. Comparación de métodos para determinar carbono orgánico en suelo. (En línea). Consultado 10 de Julio 2014. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-20672014000100002

FAO 2014a. Sistema de información sobre alimentos y recursos fertilizantes para la acuicultura: Requerimientos nutricionales de tilapia. (En línea). Consultado 10 Mayo 2014. Disponible en: <http://www.fao.org/fishery/affris/perfiles-de-las-especies/nile-tilapia/requerimientos-nutricionales/es/>

FAO 2014b. Sistema de información sobre alimentos y recursos fertilizantes para la acuicultura: Tilapia del Nilo - Formulación y preparación/producción de alimentos. Consultado 10 Mayo 2014. Disponible en: <http://www.fao.org/fishery/affris/perfiles-de-las-especies/nile-tilapia/formulacion-y-preparacion-produccion-de-alimentos/es/>

GARCÍA, D.; MORENO, C.; ATIENZA DEL REY J.; MARINERO P. 2003. Variabilidad espacial del contenido de materia orgánica en el suelo de una plantación de viñedo. (En línea). Consultado 10 de Julio 2014. Disponible en: <http://www.zonanosaturada.com/publics/V6/p223-228.pdf>

GOLDMAN, J. CARON, D.; DENNETT, M. 1987. Regulation of gross growth efficiency and ammonium regeneration in bacteria by substrate C: N ratio. *Limnology and Oceanography*. 32: 1239-1252.

GONG, Y.; HU, H.; GAO, Y.; XU, X.; GAO, H. 2011. Microalgae as platforms for production of recombinant proteins and valuable compounds: progress and prospects. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38:1879-1890.

HARGREAVES, J. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering*. 34: 344-363.

HARGREAVES, J. 2013. Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). No 4503.

HARI, B; MADHUSOODANA, K.; VARGHESE, J.; SCHRAMA, J.; VERDEGEM, M. 2004. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture*. 241: 179-194.

HEINSBROEK, L. 1990. Growth and feeding of fish. Integration course: Fish Culture. Department of fish culture and fisheries. Agricultural University, Wageningen. 93p.

HOPKINS, J.; SANDIFER, P.; BROWDY, C. 1995. Effect of two feed protein levels and feed rate combinations on water quality and production of intensive shrimp ponds operated without water. *Journal of the World Aquaculture Society*. 26: 93 - 97.

INGLE DE LA MORA, G.; VILLAREAL, E.; ARREDONDO, J.; PONCE, J. y BARRIGA, A. 2003. Evaluación de algunos parámetros de calidad del agua en un sistema cerrado de recirculación para la acuicultura, sometido a diferentes cargas de biomasa de peces. *Hidrobiológica* 13(4): 247-253.

KLINGLE, A.; LEICH, C. 2000. Estudio de pre factibilidad para la instalación de un centro de producción de tilapia roja (*Oreochromis spp*) y procesamiento como filete fresco con fines de exportación Tesis Ing. Pesquero. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 200 p.

KRISHNA, C., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., 1999. Effect of temperature on storage polymers and settleability of activated sludge. *Water Research*. 33(10): 2374-2382.

KUBITZA, F. 2011. Cultivo de tilapias en sistema de “Bioflocos” sin renovación de agua. (En línea). Consultado 18 Mayo. 2015. Disponible en: http://64.76.123.202/site/pesca/acuicultura/06_Publicaciones/_archivos/130808_Cultivo%20de%20tilapias%20en%20sistemas%20con%20bioflocos.pdf

KUNH, D. 2012. Biofloc technology options for Aquaculture: In-situ, Ex-situ systems improve water quality, provide Nutrition. Global Aquaculture Alliance. (En línea). Consultado 18 Mayo. 2015. Disponible en: <http://pdf.gaalliance.org/pdf/GAA-Kuhn-July12.pdf>

LENA (Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria La Molina). 2014.

LIÑAN, W. 2007. Crianza de Tilapia. 1 ed. Lima, PE. MACRO. 110 p. (Colección de Acuicultura).

LITTLE, D.; MURRAY, F.; AZIM, E.; LESCHEN, W.; BOYD, K.; WATTERSON A.; YOUNG J. A. 2008. Option for producing a warm water fish in the UK: limit to “green growth”? Trends in Food Science and Technology. 19: 255-264.

LOSORDO, T. 1997. Tilapia culture in intensive recirculating systems. Aquaculture Society. 1 vol. Louisiana, EU. 185-211 p.

LOYLESS, C; MALONE, R. 1997. A sodium bicarbonate dosing methodology for pH management in freshwater-recirculating aquaculture Systems. The Progressive Fish-Culturist. 59 (3): 198-205.

LUO, G.; AVNIMELECH, Y.; PAN, YF.; TAN, HX. 2012. Inorganic nitrogen dynamics in sequencing Batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. Aquacultural Engineering. 52:73-79.

LUO, G.; LIANG, W.; TAN, H.; YAO, C.; ZHANG, N.; LU, L. 2013. Effects of calcium and magnesium addition on the start-up of sequencing batch reactor using biofloc technology treating solid aquaculture waste. Aquacultural Engineering. 57: 32-37.

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. 422-423: 1-7.

MARTÍNEZ, L. ; MARTÍNEZ, J.; MIRANDA, A.; BALLESTER, E. 2011. Estado Actual del uso de biopelículas y bioflóculos en el cultivo de camarón. (En línea). Consultado 15 Febrero 2015. Disponible en: http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/XI/archivos/19-martinez.pdf.

MCINTOSH, D. 2001. Effects of two commercially available low-protein diets (21% and 31%) on water and sediment quality, and on the production of *Litopenaeus vannamei* in an outdoor tank system with limited water discharge. Aquacultural Engineering. 25: 69–82.

MEJIA, C. 2014. Dinámica del nitrógeno en bioreactores de un sistema de producción de alevinos machos de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con tecnología biofloc. Tesis Ing. Pesquero. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 90 p.

MICHAUD, L.; BLANCHETON, J.; BRUNI, V. and PIEDRAHITA, R., 2006. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquacultural Engineering*. 34: 224–233.

MIZANUR R.; YAKUPITIYAGE A.; RANAMUKHAARACHCHI. 2004. Use of fishpond sediment for environmental amelioration. *Thammasat International Journal of Science and Technology*. 9(4):1-10.

NOOTONG, K.; PAVASANT, B.; POWTONGSOOK, S. 2011. Effects of organic carbon addition in controlling inorganic nitrogen concentrations in a biofloc system. *Journal of World Aquaculture Society*. 42(3): 339-346.

OLVERA–NOVOA, M. 2002. Nutrición y alimentación de tilapia. Laboratorio de Nutrición Acuícola, Centro de investigación y Estudios Avanzados del IPN-CINVESTAV. México. 57p.

OLVERA-OLVERA, C.; OLVERA-GONZALES, J.; MENDOZA-JASSO, J.; PENICHE-VERA, R.; CASTAÑEDA-MIRANDA, R.; HERRERA-RUIZ, G. 2009. Feed dosage and ammonium control device based on C/N ratio for a zero-discharge system. *International Journal of Agriculture & Biology*. 11 (2): 173-177.

PIEDRAHITA, R. 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture*. 226: 35–44.

PRODUCE (Ministerio de la Producción). 2013. Cosecha de recursos hidrobiológicos de la actividad de acuicultura según ámbito y especie (TM) – Anual (Estadísticas). (En línea). Consultado 25 Abril. 2014. Disponible en: http://www.produce.gob.pe/images/stories/Repositorio/boletines/estadistico/2013/05_01.pdf

QUAN, Z.-X.; JIN, Y.-S.; YIN, C.-R.; LEE, J.J.; LEE, S.-T. 2005. Hydrolyzed molasses as an external carbon source in biological nitrogen removal. *Bioresource Technology*. 96 (15): 1690–1695.

RAKOCY, J. 1989. Tank culture tilapia. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC).N°282.

RAKOCY, J.; BAILEY, D.; MARTIN, J.; SHULTZ, R. 2000. Tilapia production systems for the Lesser Antiles and other resource-limited, tropical areas. In: International Symposium on tilapia in Aquaculture. 651-662 p.

RAY, A.; LEWIS, B.; BROWDY, C.; LEFFLER, J. 2010. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plan-based feed in minimal-exchange, super intensive culture systems. *Aquaculture*. 299: 89-98.

RAY, A; DILTON, K; LOTZ, J. 2011. Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive. Mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. *Aquacultural Engineering*. 45: 127-136.

RUAN, Y.; ZHU, L.; XU, X. 2011. Optimization of factors with C/N ratio and flocs biomass concentration in simulated aquaculture bio-flocs systems by response surface methodology. *Environmental Technology*. 33: 907-914.

RUIZ, A. 2012. Cambios del uso del suelo y su efecto en el contenido químico de M.O., C/N y C/P, en el ejido “EL CONEJO” Perote, Veracruz. (En línea). Consultado 20 Mayo. 2014. Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/31584/1/ruizlopezanaly.pdf>

SAMOCHA, T.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, AM.; BURGER, J.; ALMEIDA, R.; AYUB, Z.; HARISANTEO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out system for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*. 36: 184-191.

SCHNEIDER, O; SERETI, V; MACHIELS, M; EDING, E; VERRETH, J. 2006b. The potential of producing heterotrophic bacteria biomass on aquaculture waste. *Water Research*. 40: 2684-2694.

SCHULTE, E. E.; B. G. HOPKINS. 1996. Estimation of organic matter by weight loss-on-ignition. In *Soil organic matter: Analysis and interpretation*. Soil Science Society of America .46: 21–31.

SCHVEITZER, R.; ARANTES, R.; COSTÓDIO, P.; DO ESPÍRITO SANTO, C.; VINATEA, L.; QUADROS, S.; ANDREATTA, E. 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.

SERFLING, S. 2006. Microbial Flocs: Natural treatment method supports fresh-water, marine species in recirculating systems. Global Aquaculture Alliance. (En línea). Consultado 25 Mayo. 2015. Disponible en: <http://pdf.gaalliance.org/pdf/GAA-Serfling-Jun06.pdf>

SERRA, F.; GAONA, A.; FURTADO, P.; POERSCH, L.; WASIELESKY, W. 2015. Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and growth out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*. 23: 1325-1339.

SEVERICHE, C.; CASTILLO, M.; ACEVEDO, R. 2013. MANUAL DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS BÁSICOS EN AGUAS (En línea). Consultado 25 Abril. 2014. Disponible en: <http://www.eumed.net/libros-gratis/2013a/1326/1326.pdf>

THOMPSON, F.; ABREU, P.; WASIELSKY, W. 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*. 203: 263-278.

TIMMONS, M.; EBELING, J.; WHEATON, F.; SUMMERFELT, S.; VINCI, B. 2002. *Recirculating Aquaculture Systems*, 2nd ed. NRAC publication. Vol. 01-002.

THURSTON, R.; RUSSO, R.; EMERSON, K. 1979. Aqueous ammonia equilibrium–tabulation of percent un-ionized ammonia (En línea). Consultado 2 Mayo 2014. Disponible en: <http://nepis.epa.gov/Adobe/PDF/3000017U.PDF> 34

UBARNES, J. 2003. Evaluación del comportamiento productivo en la fase de acabado de la tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) con dos dietas balanceadas y productividad natural en el distrito de Pachacamac. Tesis Ing. Pesquero. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 99 p.

VINATEA, L.; GÁLVEZ, A.; BROWDY, C.; STOKES, A.; VENERO, J.; HAVEMAN, J.; LEWIS, B.; LAWSON, A.; SHULER, A.; LEFFLER, J. 2010. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero exchange: Interaction of water quality variables. *Aquacultural Engineering*. 42: 17-24.

WANG, G.; YU, E.; XIE, J.; YU, D.; LI, Z.; LUO, W.; QIU, L.; ZHENG, Z. 2015. Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*. *Aquaculture*. 443: 98–104.

WIDANARNI; 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.

WILÉN, B.-M.; BALMÉR, P. 1999. The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. *Water Res.* 33: 391-400.

XU, W.; PAN, L. 2012. Effects of biofloc son 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.; PAN, L. 2013. Dietary protein level and C/N ratio manipulation in zero-exchange culture of *Litopenaeus vannamei*: Evaluation of inorganic nitrogen control, biofloc composition and shrimp performance. *Aquaculture Research*. 45:1842-1851.

YAO, C.; TAN, H.; LUO, G.; LI. 2013. Effects of temperature on inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. *North American Journal of Aquaculture*. 75: 463-467.

ZHAO, Z.; XU, Q.; LUO, L.; WANG, C.; LI, J.; WANG, L. 2014. Effect of feed C/N ratio promoted bioflocs on water quality and production performance of bottom and filter feeder carp in minimum-water exchanged pond polyculture system. *Aquaculture*. 434: 442–448.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Bioreactor con biofloc estabilizado.



FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO 2: Acondicionamiento de tanques de concreto



FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO 3: Siembra de alevines en sistema BFT.



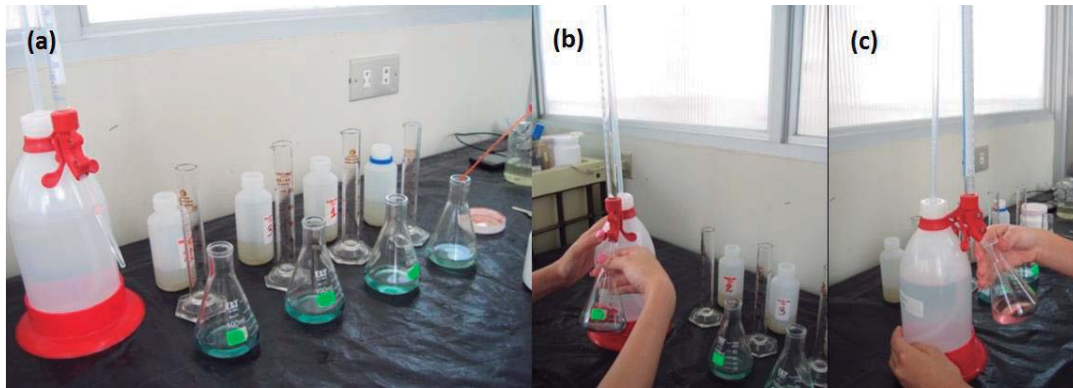
FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO 4: Medición de sólidos sedimentables en los tres tratamientos.



FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO 5: Proceso de medición diaria de la alcalinidad; (a) Preparación de muestras a titular, (b) Titulación de muestra de agua y (b) Viraje de color de la muestra.



FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO 6: Reactivos y materiales usados para el Método Nessler (HACH 8038).



FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO 7: Preparación de las muestras de agua para medir NAT en el espectrofotómetro.



FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO 8: Adición de melaza a las unidades experimentales.



FUENTE: Elaboración propia.

ANEXO 9: Porcentaje de amoniaco (%) en función de la temperatura y el pH del agua.

pH	Temperatura, °C									
	25.5	26.0	26.5	27.0	27.5	28.0	23.5	29.0	29.5	30.0
6.0	.0589	.0610	.0632	.0654	.0678	.0701	.0726	.0752	.0778	.0805
6.1	.0742	.0768	.0796	.0824	.0853	.0883	.0914	.0946	.0979	.101
6.2	.0933	.0967	.100	.104	.107	.111	.115	.119	.123	.129
6.3	.117	.122	.126	.130	.135	.140	.145	.150	.155	.160
6.4	.148	.153	.159	.164	.170	.176	.182	.189	.195	.202
6.5	.186	.193	.200	.207	.214	.221	.229	.237	.246	.254
6.6	.234	.242	.251	.260	.269	.279	.289	.299	.309	.320
6.7	.295	.305	.316	.327	.339	.351	.363	.376	.389	.402
6.8	.371	.384	.397	.411	.426	.441	.456	.472	.489	.506
6.9	.466	.483	.500	.517	.536	.554	.574	.594	.615	.636
7.0	.586	.607	.628	.651	.674	.697	.722	.747	.772	.799
7.1	.737	.763	.790	.818	.846	.876	.907	.938	.970	1.00
7.2	.926	.958	.992	1.03	1.06	1.10	1.14	1.18	1.22	1.25
7.3	1.16	1.20	1.25	1.29	1.33	1.38	1.43	1.48	1.53	1.58
7.4	1.46	1.51	1.56	1.62	1.67	1.73	1.79	1.85	1.92	1.98
7.5	1.83	1.89	1.96	2.03	2.10	2.17	2.25	2.32	2.40	2.48
7.6	2.29	2.37	2.46	2.54	2.63	2.72	2.81	2.91	3.01	3.11
7.7	2.87	2.97	3.07	3.18	3.29	3.40	3.51	3.63	2.75	3.88
7.8	3.59	3.71	3.84	3.97	4.10	4.24	4.38	4.53	4.68	4.84
7.9	4.47	4.53	4.78	4.94	5.11	5.28	5.46	5.64	5.82	6.01
8.0	5.57	5.75	5.95	6.15	6.35	6.56	6.78	7.00	7.22	7.46
8.1	6.91	7.14	7.37	7.62	7.87	8.12	8.38	8.65	8.92	9.21
8.2	8.54	8.82	9.11	9.40	9.70	10.0	10.3	10.7	11.0	11.3
8.3	10.5	10.9	11.2	11.5	11.9	12.3	12.7	13.0	13.4	13.8
3.4	12.9	13.3	13.7	14.1	14.5	15.0	15.4	15.9	16.4	16.8
8.5	15.7	16.2	16.7	17.2	17.7	18.2	18.7	19.2	19.8	20.3

FUENTE: Thurston 1979.

ANEXO 10: Tabla de dosis de bicarbonato de sodio (g) a adicionar para incrementar la alcalinidad del agua.

Volumen del sistema		Dosificación de Bicarbonato de Sodio - NaHCO ₃ (g)										
		Incremento de alcalinidad (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)										
(Galones)	(Litros)	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	200
10	38	<1	1	2	3	3	4	5	5	6	6	15
20	76	1	3	4	5	6	8	9	10	11	13	25
30	114	2	4	6	8	10	11	13	15	15	20	40
40	151	3	5	8	10	13	15	20	20	25	25	50
50	189	3	6	10	13	15	20	25	25	30	30	65
60	227	4	8	11	15	20	20	25	30	35	40	65
70	265	5	9	13	20	20	25	30	35	40	45	90
80	303	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	100
90	341	6	11	15	25	30	35	40	45	50	55	110
100	379	6	13	20	25	30	40	45	50	55	65	130
200	757	13	25	40	50	65	75	90	100	110	130	250
300	1136	20	40	55	75	95	110	130	150	170	190	380
400	1514	25	50	75	100	130	150	180	200	220	260	510
500	1893	30	65	95	130	160	190	220	260	280	320	640
600	2271	40	75	110	150	190	220	260	300	340	380	760
700	2650	45	90	130	180	220	260	320	360	400	450	890
800	3028	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	1020
900	3407	60	110	170	220	280	340	400	450	500	550	1150
1000	3785	65	130	190	250	300	400	450	500	550	600	1270

FUENTE: Loyless y Malone 1997.

Ejemplo para determinar la cantidad de bicarbonato a adicionar:

Si se quiere elevar en 40 mg CaCO₃/L la alcalinidad de 151 L de agua, se cruzará la columna de 40 (Incremento de alcalinidad) con la fila de 151 L (Volumen del sistema) .Se obtiene que se debe adicionar 10 g de bicarbonato de sodio al agua para elevar la alcalinidad.

ANEXO 11: Resultados de prueba ANOVA MR para la concentración de oxígeno.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: oxigeno 8am

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	5605,247	1	5605,247	90931,854	,000	1,000
Tratamiento	,071	2	,035	,573	,579	,087

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: oxigeno 8am

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad	Potencia observada ^a
tiempo	Esfericidad asumida	,000	,570	111,469	1,000
	Greenhouse-Geisser	,000	,570	37,173	1,000
	Huynh-Feldt	,000	,570	54,393	1,000
	Límite inferior	,002	,570	15,924	,955

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: oxigeno1pm

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	3229,222	1	3229,222	21169,935	,000	1,000
tratamiento	,354	2	,177	1,160	,375	,279

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: oxigeno1pm

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
tiempo	Esfericidad asumida	,000	,795	163,163
	Greenhouse-Geisser	,000	,795	46,837
	Huynh-Feldt	,000	,795	93,951
	Límite inferior	,003	,795	23,309

Continuación

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: oxigeno5pm

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	5129,671	1	5129,671	89616,173	,000	1,000
tratamiento	,478	2	,239	4,172	,042	,410

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: oxigeno5pm

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
tiempo	Esfericidad asumida	,000	,409	58,212
	Greenhouse-Geisser	,002	,409	17,216
	Huynh-Feldt	,000	,409	24,332
	Límite inferior	,014	,409	8,316

FUENTE: SSPS v.22, 2013.

ANEXO 12: Resultados de prueba ANOVA MR para la temperatura.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: Temperatura8am

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	92206.145	1	92206.145	51354.808	.000	1.000
Tratamiento	.331	2	.165	.092	.913	.015

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: Temperatura8am

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
Tiempo	Esfericidad asumida	.000	.308	37.360
	Greenhouse-Geisser	.024	.308	7.607
	Huynh-Feldt	.015	.308	9.781
	Límite inferior	.039	.308	5.337

Continuación

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: Temperatura1pm

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	56846.300	1	56846.300	32832.774	.000	1.000
trat	.338	2	.169	.098	.908	.031

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: Temperatura1pm

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad	Potencia observada ^a
tiempo	Esfericidad asumida	.000	.502	42.393	.998
	Greenhouse-Geisser	.019	.502	11.053	.755
	Huynh-Feldt	.003	.502	20.925	.939
	Límite inferior	.049	.502	6.056	.541

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: Temperatura5pm

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	97953.959	1	97953.959	296608.846	.000	1.000
Tratamiento	.137	2	.069	.208	.815	.033

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: Temperatura5pm

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
Tiempo	Esfericidad asumida	.000	.538	98.015
	Greenhouse-Geisser	.000	.538	32.488
	Huynh-Feldt	.000	.538	47.450
	Límite inferior	.003	.538	14.002

FUENTE: *SSPS* v.22, 2013.

ANEXO 13: Resultados de prueba ANOVA MR para el pH.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: pH 8am

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Interceptación	7197,325	1	7197,325	299182,726	,000
tratamiento	,112	2	,056	2,335	,139

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: pH 8am

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
tiempo	Esfericidad asumida	,002	,231	25,220
	Greenhouse-Geisser	,019	,231	11,746
	Huynh-Feldt	,005	,231	19,336
	Límite inferior	,082	,231	3,603

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: pH1pm

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Interceptación	4331,452	1	4331,452	1227531,240	,000
TRATAMIENTO	,135	2	,068	19,181	,002

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: pH1pm

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad	Potencia observada ^a
TIEMPO	Esfericidad asumida	,000	,566	54,885	1,000
	Greenhouse-Geisser	,008	,566	14,449	,861
	Huynh-Feldt	,001	,566	27,510	,983
	Límite inferior	,031	,566	7,841	,648

Continuación

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: pH5pm

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Interceptación	5726,440	1	5726,440	353489,828	,000
tratamiento	,119	2	,059	3,670	,068

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: pH5pm

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
tiempo	Esfericidad asumida	,000	,403	42,495
	Greenhouse-Geisser	,017	,403	9,472
	Huynh-Feldt	,007	,403	13,646
	Límite inferior	,036	,403	6,071

FUENTE: *SSPS* v.22, 2013.

ANEXO 14: Resultados de prueba ANOVA MR para la luminosidad.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: Luminosidad8am

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	561.924	1	561.924	207.915	.000	.959
Tratamiento	.391	2	.195	.072	.931	.016

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: Luminosidad8am

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
Tiempo	Esfericidad asumida	.004	.275	23.874
	Greenhouse-Geisser	.040	.275	8.863
	Huynh-Feldt	.014	.275	15.549
	Límite inferior	.098	.275	3.411

Continuación

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: LUMINOSIDAD1pm

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	7091,743	1	7091,743	356,850	,000	,983
TRATAMIENTO	2,949	2	1,474	,074	,929	,024

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: LUMINOSIDAD 1pm

Origen		F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
TIEMPO	Esfericidad asumida	,819	,577	,120
	Greenhouse-Geisser	,819	,458	,120
	Huynh-Feldt	,819	,515	,120
	Límite inferior	,819	,400	,120

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: Luminosidad5pm

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	692.086	1	692.086	30.719	.000	.773
Tratamiento	.131	2	.065	.003	.997	.001

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: Luminosidad5pm

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
Tiempo	Esfericidad asumida	.477	.095	6.635
	Greenhouse-Geisser	.376	.095	1.228
	Huynh-Feldt	.397	.095	1.666
	Límite inferior	.356	.095	.948

FUENTE: SSPS v.22, 2013.

ANEXO 15: Resultados de la prueba H de Kruskal Wallis para los sólidos sedimentables (SS).

Estadísticos de prueba^{a,b}

	s1	s2	s3	s4	s5	s6	s7
Chi-cuadrado	1.992	4.303	2.067	3.490	15.645	6.898	3.942
gl	2	2	2	2	2	2	2
Sig. asintótica	.369	.116	.356	.175	.000	.032	.139

Estadísticos de prueba^{a,b}

	s8
Chi-cuadrado	2.590
gl	2
Sig. asintótica	.274

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: tratamientos

FUENTE: *SSPS* v.22, 2013.

ANEXO 16: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para la turbidez

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: Turbidez

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	13488302.535	1	13488302.535	5040.149	.000	.995
tratamiento	2454.076	2	1227.038	.459	.638	.037

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: Turbidez

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad	Potencia observada ^a
tiempo	Esfericidad asumida	.000	.483	156.895	1.000
	Greenhouse-Geisser	.000	.483	102.754	1.000
	Huynh-Feldt	.000	.483	140.585	1.000
	Límite inferior	.000	.483	22.414	.995

FUENTE: *SSPS* v.22, 2013.

ANEXO 17: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para los sólidos suspendidos volátiles (SSV).

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: SSV

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	30540299.278	1	30540299.278	2805.107	.000	.992
tratamiento	71612.146	2	35806.073	3.289	.055	.215

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: SSV

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad	Potencia observada ^a
tiempo	Esfericidad asumida	.000	.196	40.860	.999
	Greenhouse-Geisser	.000	.196	23.262	.978
	Huynh-Feldt	.000	.196	30.797	.994
	Límite inferior	.024	.196	5.837	.640

FUENTE: SSPS v.22, 2013.

ANEXO 18: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para la concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT).

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: NAT

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	857.572	1	857.572	6251.917	.000	.996
Tratamiento	7.054	2	3.527	25.711	.000	.682

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: NAT

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
Tiempo	Esfericidad asumida	.000	.168	33.935
	Greenhouse-Geisser	.000	.168	25.229
	Huynh-Feldt	.000	.168	33.935
	Límite inferior	.038	.168	4.848

FUENTE: SSPS v.22, 2013.

ANEXO 19: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para la concentración de nitritos (N-NO₂).

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: Nitritos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	,566	1	,566	1734,818	,000	,997
TRATAMIENTO	,000	2	,000	,422	,674	,123

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: Nitritos

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad	Potencia observada ^a
tiempo	Esfericidad asumida	,056	,295	17,565	,819
	Greenhouse-Geisser	,092	,295	7,461	,521
	Huynh-Feldt	,056	,295	17,565	,819
	Límite inferior	,164	,295	2,509	,267

FUENTE: *SSPS* v.22, 2013.

ANEXO 20: Resultados de la prueba ANOVA Medidas repetidas para la concentración de nitratos (N-NO₃).

Pruebas de efectos inter-sujetos

Medida: Nitratos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Interceptación	545546,127	1	545546,127	686,304	,000	,991
tratamiento	1761,919	2	880,960	1,108	,389	,270

Pruebas de efectos dentro de sujetos

Medida: Nitratos

Origen		Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad
tiempo	Esfericidad asumida	,000	,811	180,543
	Greenhouse-Geisser	,000	,811	71,892
	Huynh-Feldt	,000	,811	180,543
	Límite inferior	,002	,811	25,792

FUENTE: *SSPS* v.22, 2013.

ANEXO 21: Resultados de la prueba ANOVA de un factor para la Ganancia de biomasa (GB) de los peces.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
GB	Entre grupos	113111.569	2	56555.784	38.727	.000
	Dentro de grupos	8762.121	6	1460.354		
	Total	121873.690	8			

Variable dependiente	(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza		
						Límite inferior	Límite superior	
GB	HSD Tukey	1.00	2.00	-175.02000 [*]	31.20207	.003	-270.7565	-79.2835
			3.00	-270.76333 [*]	31.20207	.000	-366.4998	-175.0268
	2.00	1.00	175.02000 [*]	31.20207	.003	79.2835	270.7565	
		3.00	-95.74333 [*]	31.20207	.050	-191.4798	-.0068	
	3.00	1.00	270.76333 [*]	31.20207	.000	175.0268	366.4998	
		2.00	95.74333 [*]	31.20207	.050	.0068	191.4798	

FUENTE: *SSPS* v.22, 2013.

ANEXO 22: Resultados de la prueba H de Kruskal Wallis para la supervivencia.

	Tratami	N	Rango promedio
superviv	1.00	3	5.50
	2.00	3	4.00
	3.00	3	5.50
	Total	9	

	superviv
Chi-cuadrado	.661
gl	2
Sig. asintótica	.719

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: tratamientos

FUENTE: *SSPS* v.22, 2013.

