

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN ACUICULTURA**



**RETENCIÓN PROTEICA Y LIPÍDICA CORPORAL DE  
JUVENILES DE TILAPIA GRIS (*Oreochromis niloticus*)  
CULTIVADOS EN SISTEMAS BIOFLOC A DIFERENTES  
RELACIONES C:N**

**Presentada por:**

**KATHERINE PATRICIA ZAPATA LOVERA**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE EN ACUICULTURA**

**Lima - Perú**

**2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN ACUICULTURA**

**“RETENCIÓN PROTEICA Y LIPÍDICA CORPORAL DE  
JUVENILES DE TILAPIA GRIS (*Oreochromis niloticus*)  
CULTIVADOS EN SISTEMAS BIOFLOC A DIFERENTES  
RELACIONES C:N”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:**

**KATHERINE PATRICIA ZAPATA LOVERA**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Dra. Marta Williams León  
**PRESIDENTE**

Mg.Sc. Jessie Vargas Cárdenas  
**PATROCINADOR**

Dr. Alfredo Olivera Gálvez  
**CO-PATROCINADOR**

Mg.Sc. Beatríz Ángeles Escobár.  
**MIEMBRO**

Msc. Fernando Galecio Regalado  
**MIEMBRO**

## DEDICATORIA

En el presente trabajo citó a muchas personas...

¿Y las personas que merecen estar presentes? ¿Qué puedo ofrecerles a aquellas personas que citan mi día a día?

...Quizás no pueda ofrecerles una cita, pero permítanme dedicarles este logro...

- A Dios, por darme la oportunidad y voluntad de lograr mis metas.
- A mis padres, Arturo Zapata y Mirian Lovera, por ser mi razón y motivo de lucha en la realización de mis sueños, por brindarme las herramientas necesarias para salir adelante con compromiso, decisión, respeto, lealtad, amor, profesionalismo, persistencia, tenacidad, esfuerzo, trabajo y amor.
- A mis hermanas, Luisa, Lourdes y Claudia, por demostrarme que a veces la imaginación de una noche puede resultar ser el inicio de nuestros futuros sueños, gracias por ser mis compañeras de toda la vida.
- A mis pequeños, Tincito y Marina, por servirme de base, apoyo y alegría durante todo este tiempo.
- Al tiempo, por ser mi mejor aliado.

*Katherine Patricia Zapata Lovera.*

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, a Dios por ponerme en mi camino a excelentes personas y brindarme el empuje para la realización de mis logros, y a mi familia por estar siempre presente.

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), por brindarme la oportunidad de llevar a cabo la Maestría en Acuicultura y por ende, la realización de la presente investigación.

A mi alma mater, Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), por reiterarme el orgullo de ser molinera y permitirme ser partícipe del Convenio Binacional Perú-Brasil; como también a la Universidad Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), por ofrecerme el intercambio de cultura y conocimientos que me beneficiarán de por vida.

A mis asesores, amigos y maestros, Mg. Sc. Jessie Vargas y Dr. Alfredo Olivera Gálvez, por su apoyo incondicional, dedicación, aporte de conocimientos, contribuir en el desarrollo de mi formación académica y la realización de la presente investigación.

A la coordinadora y maestra Mg. Sc. Beatriz Ángeles Escobar, por la dedicación y apoyo brindado durante los últimos años.

A los maestros de la Maestría en Acuicultura, por la contribución en mi formación académica y profesional.

Al amigo y consejero Dr. Luis Otavio Brito Da Silva, por el apoyo, consejo, supervisión y realización de la presente investigación.

A mis amigos Yllana, Isabella, Taina, Susane, Helder, Wilker, Jonas, Igor, Henrique, por brindarme sus consejos y apoyo durante mi estadía por Brasil, y en la realización del experimento.

Al Instituto Agronómico de Pernambuco (IPA), por permitir realizar los análisis proximales en el Laboratorio de Análisis de Planta, Ración y Agua (LAPLA).

A la amiga, Marilene Pimentel Ferreira, por la enseñanza y apoyo en la realización de los análisis en laboratorios.

# ÍNDICE GENERAL

I	INTRODUCCIÓN .....	1
II	REVISIÓN LITERARIA.....	3
2.1	Aspectos generales de la tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	3
2.1.1	Antecedentes .....	3
2.1.2	Aspectos biológicos de la tilapia gris .....	5
2.1.3	Calidad de agua en el cultivo de tilapia gris.....	14
2.2	Sistema biofloc (SBF).....	14
2.2.1	Dinámica del sistema biofloc .....	15
2.2.2	Calidad de agua del sistema biofloc .....	18
2.2.3	Procedimiento de manejo del sistema biofloc .....	22
2.2.4	Aporte nutricional del sistema biofloc .....	25
2.2.5	Cultivo de tilapia gris en sistema biofloc.....	27
III	MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1	Lugar de ejecución.....	29
3.2	Etapas .....	29
3.2.1	Etapa pre-experimental .....	29
3.2.2	Etapa experimental .....	34
3.3	Diseño y análisis estadístico .....	38
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	39
4.1	Análisis de los parámetros físico-químicos de la calidad de agua y la relación C:N del sistema biofloc .....	39
4.1.1	Temperatura (°C).....	39
4.1.2	Oxígeno disuelto (mg.l <sup>-1</sup> ) .....	42
4.1.3	pH .....	43
4.1.4	Alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup> ).....	44
4.1.5	Sólidos particulados totales .....	45
4.1.6	Turbidez (unidades nefelométricas - UNF).....	47

4.1.7	Compuestos nitrogenados disueltos.....	48
4.1.8	Fosfato – orfosfato (mg.l <sup>-1</sup> ) .....	52
4.2	Parámetros productivos de <i>Oreochromis niloticus</i> y la relación C:N del sistema biofloc. ....	53
4.2.1	Tasas de crecimiento absoluta (TC, g.día <sup>-1</sup> ) y específica (TCE, %.día <sup>-1</sup> ).....	55
4.2.2	Tasa de eficiencia proteica (TEP).....	58
4.2.3	Valor de la proteína productiva (VPP, %) .....	59
4.2.4	Carga Final (Kg.m <sup>-3</sup> ).....	60
4.2.5	Tasa de conversión alimenticia (TCA) .....	61
4.2.6	Supervivencia (expresado en %) .....	62
4.3	Análisis de la retención proteica y lipídica corporal de <i>Oreochromis niloticus</i> y la relación C:N del sistema biofloc.....	63
4.3.1	Relación la retención proteica corporal de <i>Oreochromis niloticus</i> , y la relación C:N del sistema biofloc.....	65
4.3.2	Relación entre la retención lipídica corporal de <i>Oreochromis niloticus</i> , y la relación C:N del sistema biofloc. ....	67
V	CONCLUSIONES.....	69
VI	RECOMENDACIONES.....	71
VII	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
VIII	ANEXOS.....	88

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tasa de crecimiento absoluta (TC) y tasa de crecimiento específica (TCE) de la tilapia gris, según diferentes autores. ....	8
Tabla 2: Tasa de conversión alimenticia (TCA) en el cultivo de alevines de tilapia gris. ....	9
Tabla 3: Frecuencia y tasa de alimentación para estadíos iniciales de la tilapia gris. ....	10
Tabla 4: Exigencias del contenido proteico en el alimento balanceado para tilapia gris, en función al peso (g). ....	11
Tabla 5: Composición química proximal de la tilapia gris. ....	12
Tabla 6: Parámetros físico-químicos de la calidad del agua en el cultivo de tilapia gris. ...	14
Tabla 7: Fuentes de carbono orgánicos empleados en el sistema biofloc. ....	23
Tabla 8: Investigaciones realizadas en el cultivo de la tilapia gris en sistemas biofloc. ....	28
Tabla 9: Parámetros físico-químicos de la calidad del agua subterránea. ....	30
Tabla 10: Cantidad de melaza (g) a adicionar en cada tratamiento, en función del alimento balanceado (Kg). ....	31
Tabla 11: Parámetros físico-químicos de la calidad de agua en los bioreactores de los sistemas biofloc, al terminar la etapa pre-experimental. ....	32
Tabla 12: Cantidad de melaza (g) a adicionar en función del alimento balanceado (Kg), durante la etapa experimental. ....	35

Tabla 13: Parámetros de temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg.l <sup>-1</sup> ), pH y sólidos sedimentables (mg.l <sup>-1</sup> ), controlados diariamente. ....	36
Tabla 14: Parámetros de alcalinidad total (mg.l <sup>-1</sup> ), turbidez (UNF), ortofosfato (mg.l <sup>-1</sup> ), nitrógeno amoniacal total (mg.l <sup>-1</sup> ), nitritos (mg.l <sup>-1</sup> ) y nitratos (mg.l <sup>-1</sup> ), controlados semanalmente. ....	37
Tabla 15: Promedio y desviación estándar de los parámetros físico-químicos de la calidad de agua de juveniles de <i>Oreochromis niloticus</i> cultivados en los sistemas biofloc a diferentes relaciones C:N, durante 58 días de experimentación. ....	40
Tabla 16: Promedio y desviación estándar de los parámetros productivos de juveniles de <i>Oreochromis niloticus</i> de la presente investigación, durante 58 días de experimentación. .	54
Tabla 17: Promedio y desviación estándar de la composición químico proximal del alimento, <i>floc</i> y <i>Oreochromis niloticus</i> cultivados en sistemas biofloc a diferentes relaciones C:N. .	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Producción de tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) en el Perú desde 1975 hasta 2014.....	4
Figura 2: Tanques de bioreactores del sistema biofloc a diferentes relaciones C:N. ....	29
Figura 3: Distribución aleatoria de las unidades experimentales. ....	33
Figura 4: Promedios semanales de temperatura del agua (°C) de cada tratamiento, durante 58 días de experimentación. ....	41
Figura 5: Promedios semanales de oxígeno disuelto del agua (mg.l <sup>-1</sup> ) de cada tratamiento, durante 58 días de experimentación.....	42
Figura 6: Producción de sólidos sedimentables (ml.l <sup>-1</sup> ) en el cultivo de <i>Oreochromis niloticus</i> , durante 58 días de experimentación.....	46
Figura 7: Producción de sólidos suspendidos totales (mg.l <sup>-1</sup> ) en el cultivo de <i>Oreochromis niloticus</i> , durante 58 días de experimentación.....	47
Figura 8: Coloración del agua en los tratamientos CN10 (a), CN15 (b) y CN20 (c), en el día 57 de la experimentación.....	48
Figura 9: Dinámica del: a) NAT (mg.l <sup>-1</sup> ), b) NO <sub>2</sub> (mg.l <sup>-1</sup> ) y c) NO <sub>3</sub> (mg.l <sup>-1</sup> ) en el cultivo de <i>Oreochromis niloticus</i> , durante los 58 días de experimentación.....	50
Figura 10: Dinámica del ortofosfato PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (mg.l <sup>-1</sup> ) en el cultivo de <i>Oreochromis niloticus</i> , durante 58 días de experimentación.....	53
Figura 11: Curva de crecimiento de <i>Oreochromis niloticus</i> , durante 58 días de experimentación.....	55
Figura 12: Tasas de crecimiento absoluto (TC, g.día <sup>-1</sup> ) de <i>Oreochromis niloticus</i> , durante 58 días de experimentación. ....	56

Figura 13: Promedio y desviación estándar de la tasa de crecimiento específico de <i>Oreochromis niloticus</i> , luego de 58 días de experimentación.....	57
Figura 14: Promedio y desviación estándar de la tasa de eficiencia proteica (TEP) de <i>Oreochromis niloticus</i> cultivados en sistema biofloc a diferentes relaciones C:N, luego de 58 días. ....	58
Figura 15: Promedio y desviación estándar de los valores de la proteína productiva (VPP, %) de <i>Oreochromis niloticus</i> cultivados en sistema biofloc a diferentes relaciones C:N, luego de 58 días.....	59
Figura 16: Relación entre el crecimiento (g) y el rendimiento (Kg.m <sup>-3</sup> ) de <i>Oreochromis niloticus</i> , durante 58 días de experimentación.....	60
Figura 17: Promedio y desviación estándar de las tasas de conversión alimenticia (TCA) de <i>Oreochromis niloticus</i> , luego de 58 días de experimentación.....	61
Figura 18: Promedio y desviación estándar de la supervivencia de <i>Oreochromis niloticus</i> , después de 58 días de experimentación. ....	62
Figura 19: Promedio y desviación estándar de los contenidos proteicos corporales de <i>Oreochromis niloticus</i> cultivados en sistema biofloc a diferentes relaciones C:N. ....	66
Figura 20: Promedio y desviación estándar de los contenidos lipídicos corporal de <i>Oreochromis niloticus</i> cultivados en sistema biofloc a diferentes relaciones C:N. ....	67
Figura 21: Centro Acuícola Artesanal en Camaragibe, Brasil. ....	95
Figura 22: Aclimatación y manejo de alevines de tilapia gris.....	95
Figura 23: Siembra de alevines de tilapia gris en los SBF.....	95
Figura 24: Unidades experimentales de la investigación. ....	96
Figura 25: Medición de parámetros físico-químicos del agua. ....	96
Figura 26: Biometría semanal.....	96

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Parámetros físicos-químicos del agua de cultivo del Centro Acuícola Artesanal en Camaragibe, Brasil.....	88
Anexo 2: Análisis químico proximal (proteína y lípidos).....	88
Anexo 3: Determinación de cantidad de melaza a adicionar durante la experimentación...90	
Anexo 4: Manejo de remoción de sólidos del sistema biofloc. ....	91
Anexo 5: Temperatura promedio (°C) de cada turno de medición, durante 58 días de experimentación.....	92
Anexo 6: Valores máximos y mínimos de oxígeno disuelto ( $\text{mg.l}^{-1}$ ), durante las 8 semanas de experimentación. ....	92
Anexo 7: Porcentaje de amonio no ionizado en agua dulce a diferentes valores de pH y los valores promedios de $\text{NH}_3$ , $\text{NH}_4^+$ y NAT en $\text{mg.l}^{-1}$ , de la experimentación. ....	93
Anexo 8: Valores promedios de N- $\text{NH}_3$ , N- $\text{NH}_4^+$ , N-NAT, N- $\text{NO}_2$ y N- $\text{NO}_3$ en $\text{mg.l}^{-1}$ , de la experimentación.....	94
Anexo 9: Parámetros productivos de la tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) durante la etapa experimental. ....	94
Anexo 10: Fotografías de la experimentación.....	95
Anexo 11: Análisis estadístico de la experimentación.....	97

## RESUMEN

La presente investigación evaluó los efectos de tres relaciones carbono:nitrógeno (C:N) en cultivos de sistema biofloc (SBF) sobre la retención proteica y lipídica corporal de juveniles de *Oreochromis niloticus*, parámetros productivos y parámetros de la calidad del agua, durante 58 días. Mediante un diseño completo al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones: control (CL) y tres SBF con relaciones C:N de 10:1, 15:1 y 20:1, repartidos en doce tanques de 0.04m<sup>3</sup>, con 30 peces cada uno (peso promedio: 1.55±0.01g). Se administró una dieta comercial (proteína: 40 por ciento, lípidos: 9 por ciento) a tasas alimenticias del 10 por ciento (primeros 30 días) y 7 por ciento (28 días posteriores). Semanalmente se evaluaron los parámetros físico-químicos del agua y productivos de los peces. Se adicionó melaza como fuente de carbono orgánico e hidróxido de calcio como fuente de carbonatos. Al finalizar, el experimento se obtuvo diferencias significativas entre retención proteica de los peces cultivados en el CL y los SBF ( $p < 0.05$ ), debido a la presencia de comunidades microbianas en estos últimos; además el valor de la proteína productiva (VPP) en los tratamientos SBF, indican que el nitrógeno no aprovechado sirvió para la formación de la proteína microbiana, aumentando la retención corporal de proteína en tilapia hasta el 50 por ciento. La retención lipídica no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ). La interacción entre la calidad de agua y los parámetros productivos en el tratamiento C:N 10:1 favoreció la menor producción de sólidos sedimentables ( $38.61 \pm 0.54 \text{ ml.l}^{-1}$ ) logrando alcanzar una mayor carga final ( $15.50 \pm 0.81 \text{ Kg.m}^{-3}$ ), a diferencia del control que alcanzó un rápido crecimiento ( $22.35 \pm 0.26 \text{ g}$ ) con menor supervivencia ( $61.11 \pm 5.09$  por ciento). En síntesis, la relación C:N de 10:1 otorga mayor retención proteica corporal, alta supervivencia y carga final, y baja conversión alimenticia en el cultivo de juveniles de *Oreochromis niloticus*.

**Palabras claves:** *Oreochromis niloticus*, relación C:N del sistema biofloc (SBF), retención proteica corporal, retención lipídica corporal, calidad del agua, parámetros productivos.

## ABSTRACT

The study evaluated the effect of three carbon:nitrogen (C:N) ratios in biofloc system (BFT) on the body protein and lipid retention of juvenile *Oreochromis niloticus*, productivity and water quality parameters, for 58 days. Using a complete randomized design (CRD) with four treatments and three replications: control (CL) and three BFT with C:N ratios of 10:1, 15:1 and 20:1, divided into twelve 0.04m<sup>3</sup> tanks, with 30 fish each one (average weight: 1.55±0.01g). A commercial diet (40 percent of protein and 9 percent of lipids) was proportioned at food rate of 10 percent (first 30 days) and 7 percent (next 28 days). Weekly, physics-chemical parameters of water quality and productivity parameters were evaluated; also, molasses was added as a source of organic carbon and calcium hydroxide as carbonate source. At the end of the experiment significant differences was found between the protein retention of fish in CL versus BFT ( $p < 0.05$ ), due to the presence of microbial communities in BFT. The protein productive value (PPV) in BFT treatments, indicate that unutilized nitrogen was used to the formation of microbial protein, incrementing the body protein retention up to 50 percent. The lipid retention showed no significant different between treatments ( $p > 0.05$ ). The interaction between water quality and productivity parameters in the treatment C:N 10:1 favored in lower the production of settleable solids (38.61±0.54ml.l<sup>-1</sup>) achieving a higher final load (15.50±0.81Kg.m<sup>-3</sup>), however the control achieved rapid growth (22.35±0.26g) with less survival rate (61.11±5.09 percent). In short, the C: N ratio of 10:1 gives greater body protein retention, high survival and final load, and low feed conversion ratio in the cultivation of juvenile *Oreochromis niloticus*.

**Keywords:** *Oreochromis niloticus*, C: N ratio biofloc system (BFT), body protein retention, body lipid retention, water quality, productive parameters.

## I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se desarrollan diversas actividades que permiten el abastecimiento de recursos alimenticios para la humanidad con la finalidad de ser sostenibles en el tiempo y no causar daño al medio ambiente. La acuicultura, como tal, cumple un rol fundamental en el suministro de recursos hidrobiológicos con alta calidad, cubriendo las necesidades alimenticias y nutricionales; sin embargo es influenciada por los altos costos destinados al alimento, la escasez de agua y tierra, y los problemas medioambientales, que obstaculizan su viable desarrollo (FAO 2014).

Esta actividad se encuentra regida por las cantidades de proteína y lípidos esenciales que se requieren en mayor grado durante los primeros estadios de los organismos a cultivar, pues el alimento representa alrededor del 50 por ciento de los costos de producción, además se ve afectada por la disminución en la producción de harina y aceite de pescado que son insumos comúnmente utilizados. En el cultivo de la tilapia se ha trabajado con diversas dietas balanceadas cuyo contenidos proteicos desde 20 hasta el 50 por ciento y contenidos lipídicos del 5 al 15 por ciento (Craig y Helfrich 2002, Santiago *et al.* 1982 citados por Abdul *et al.* 1988); determinando que a un contenido proteico del 45 por ciento, se genera suficiente energía para ser aprovechable por el pez en su crecimiento (Abdul *et al.* 1988), además, la proteína es la principal energía que se ofrece en los alimentos (Smith y Dall 1991, Hewitt 1992). Sin embargo, para el caso de los lípidos, si se ofrece un alimento con niveles por debajo del 5 por ciento de estos, la tilapia no los emplea eficientemente como fuente energética (Boscolo *et al.* 2005 citados en Abdel-Tawwab *et al.* 2010).

Por otro lado el sistema del biofloc presenta diferentes enfoques, con mayor importancia en su aporte nutricional, mediante la eficiente utilización de los nutrientes provenientes de la acuicultura (Avnimelech 2006, Ekasari *et al.* 2014). La dinámica de este sistema se basa en el adecuado manejo de una relación C:N para la remoción y asimilación de nutrientes en el agua a través de la biomasa de bacterias heterótrofas, encargadas de estimular la producción de proteína microbiana (flóculos) (Avnimelech 1999, De Schryver *et al.* 2008); resultando

influenciada por la interacción de los parámetros físico-químicos del agua, que a su vez influyen en los organismos presentes en el sistema (Ariza y González 1997). El sistema biofloc tiene mayor importancia económica al producir un recurso sano y de alta calidad (Watanabe 2002), ofreciendo una fuente de proteína y lípidos, como nutrientes determinantes para la viabilidad de su uso en la acuicultura; ya sea como fuente alimenticia *in situ* (Crab *et al.* 2010) o su utilización como ingrediente en la formulación de alimentos balanceados (Kuhn *et al.* 2009), tomando en cuenta la evaluación de su digestibilidad, contenido nutricional, palatabilidad, entre otros aspectos (De Schryver *et al.* 2008).

La biomasa de bacterias heterótrofas puede generar compuestos con una alta reserva energética, como el poli- $\beta$ -hidroxibutirato, y ser fácilmente digeridas por los organismos cultivados. Además se acompaña de otro tipo de organismos, como el fitoplancton y el zooplancton, quienes consumen las partículas orgánicas y conforman los flóculos (De Schryver *et al.* 2008), considerándolos como fuente de alimento que pueden ser aprovechados por los organismos cultivados (Burford *et al.* 2004). A pesar de ello, la cantidad de proteína y lípidos en el biofloc suelen ser muy variables, pues dependen del organismo a cultivar, manejo del sistema y el alimento balanceado ofrecido; a pesar de ello, se considera que estos componentes nutricionales representan elevadas fracciones en los requerimientos de muchas especies acuícolas (Crab *et al.* 2010).

Las ventajas de este sistema se han validado a través de muchas investigaciones, Emerenciano *et al.* (2012a) mencionan que obtuvieron resultados favorables en el crecimiento y la supervivencia en el cultivo de langostinos, Avnimelech (2007) explica la potencial alimentación que brinda en el cultivo de *O. mossambicus*, donde el pez creció rápidamente mediante el consumo de sólo proteína microbiana durante las 24 horas. Otros autores (Avnimelech y Kochba 2009, Gao *et al.* 2012, Hari *et al.* 2004) mencionan que este sistema mejora la tasa de conversión alimenticia e indirectamente es un indicador de la retención proteica en los organismos cultivados.

La presente investigación tiene como objetivo principal, explicar si la retención proteico y lipídica corporal de juveniles de Tilapia Gris (*Oreochromis niloticus*) es influenciada por la relación C:N del sistema biofloc; y como objetivos específicos, evaluar los parámetros productivos de los alevines y los parámetros físico-químicos de la calidad del agua de los sistemas biofloc.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos generales de la tilapia gris (*Oreochromis niloticus*)

#### 2.1.1. Antecedentes

La tilapia es un pez de agua dulce originario de África. Su nombre proviene del idioma Swahili que significa pez (Baltazar 2007, De Oliveira *et al.* 2007), pertenece a la orden Perciforme, la familia Cichlidae (Costa y Fróes, 2012) y engloba principalmente los géneros *Oreochromis*, *Sarotherodon* y *Tilapia* (Luchini 2006, Nogueira 2003). Los primeros registros de este pez se remontan a la década de los cincuentas, durante la Segunda Guerra Mundial, donde se comercializaba por su aporte proteico (Nogueira 2003, Ruiz *et al.* 2006). Luego se realizaron una serie de investigaciones en el desarrollo acuícola rural del Congo Belga, tomando en cuenta su alto índice reproductivo, su alta tolerancia a bajas calidades del agua, su consumo de una amplia variedad de alimentos, su fácil comercialización y en el mejoramiento de los estándares de vida (Beltrán - Álvarez *et al.* 2009, citados Gómez *et al.* 2011, Fávero *et al.* 2010). Años más tarde, más de cien países la han introducido en su acuicultura para incrementar sus volúmenes de producción y asegurar la sostenibilidad de la actividad (Baltazar 2007, Atwood 2003 citado en Ruiz *et al.* 2006).

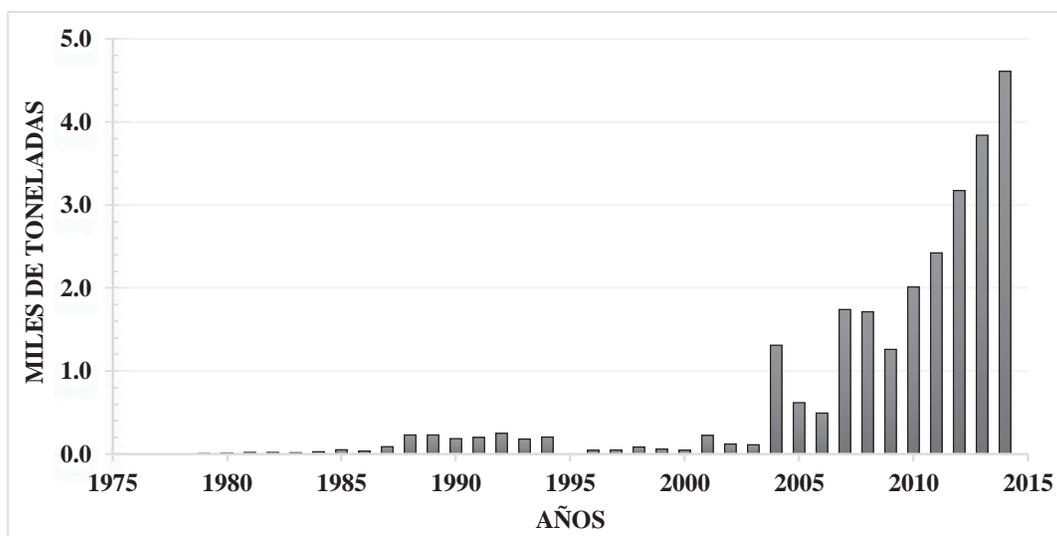
Actualmente la tilapia se ha convertido en la tercera especie más cultivada, después de las carpas y salmones (El Sayed 2006). La especie *Oreochromis niloticus* proviene del Valle Jordán y de las Costas del Río Palestino (Costa y Fróes 2012), representando alrededor del 70 por ciento de la tilapia cultivada a nivel mundial (Fitzsimons 2004 citado en Ruiz *et al.* 2006, Nogueira 2003). Esta especie se destaca por su amplia resistencia frente a diversos factores medioambientales, su paquete tecnológico, su rápido crecimiento y su alta producción de alevinos (Costa y Fróes 2012, Luchini 2006).

En el Perú durante la década de los sesentas, la Dirección General de Caza y Pesca del Ministerio de Fomento y Agricultura introdujo a la Tilapia rendalli en los departamentos de

San Martín, Loreto y Lambayeque, pero no se obtuvo un cultivo exitoso (Moscoso 2001). En los años setenta, el Instituto del Mar del Perú (IMARPE) junto con la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) introdujeron *O. niloticus*, *O. hornorum* y *O. mossambica* con fines de investigación y para desarrollar el cultivo en la zonas de selva alta, lográndose obtener buenos resultados en su cultivo (Baltazar 2009).

En estos momentos su cultivo se desarrolla en diversas modalidades, desde pequeñas balsas hasta en grandes reservorios; contribuyendo en el aumento de su producción, en función de la aceptación de los mercados nacionales como los internacionales, y su desarrollo en la adopción de nuevas tecnologías en el cultivo intensivo y superintensivo (Nogueira 2003).

La producción de esta especie en el Perú, resultó tener un inicio variable por efecto de la falta de paquetes tecnológicos, manejo incipiente, entre otros. Entre 1998 y 1999, esta especie se vio beneficiada debido a las altas temperaturas generadas por el Fenómeno del Niño, siendo accidentalmente liberadas y reproduciéndose en la laguna La Niña (Departamento de Piura); sin embargo desde el 2007 se viene dando un crecimiento constante de esta acuicultura gracias a la presencia del Plan de Desarrollo Acuícola que busca potencializar la actividad de las especies más importantes en el territorio nacional (Figura 1), mediante el uso de nuevas tecnología, estrategias de marketing y el cuidado del medio ambiente (PRODUCE 2013).



**Figura 1: Producción de tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) en el Perú desde 1975 hasta 2014.**

Fuente: PRODUCE (2015).

Según PRODUCE (2015), la producción de *O. niloticus* alcanzó 4.6 mil Tn en el 2014, centrándose en los departamentos de Piura, San Martín y Lima (50.09 por ciento, 43.15 por ciento y 5.25 por ciento, respectivamente).

### **2.1.2. Aspectos biológicos de la tilapia gris**

Las tilapias son consideradas peces de aguas cálidas y actualmente se encuentran distribuidas en más de cien países a nivel mundial, su cultivo se viene desarrollando en aguas subterráneas, aguas termales, reservorios, entre otros (Ruiz *et al.* 2006). Tiene un cuerpo comprimido y discoidal largo, con una boca ancha ligeramente protráctil y cuenta con dientes rudimentarios en los labios y un largo intestino (Nogueira 2003, De Oliveira *et al.* 2007). En cuanto a su sistema locomotor posee aletas pares (pectorales y ventrales) e impares (caudal, dorsal y anal), estas aletas constan de varias espinas y radios suaves, por lo que la aleta dorsal está en forma de cresta (Martínez 2006).

La especie *O. niloticus* presenta un hábito alimenticio omnívoro con inclinación a fitoplanctófaga pues se reporta información que tiene la habilidad de alimentarse de plancton, superando en crecimiento a las demás especies de tilapias (Costa y Fróes 2012); sin embargo tiene la facilidad de aceptar varias fuentes de alimentos (El Sayed 2006), que incluyen alimentos balanceados comerciales o alimentos artesanales a base de subproductos agropecuarios, dado que presentan diferentes modalidades para absorber y utilizar nutrientes necesarios (De Oliveira *et al.* 2007, Hlophe y Moyo 2013).

Se le atribuyen ciertas ventajas al cultivo de esta especie como un elevado crecimiento y alta tasa de supervivencia, resistencia a enfermedades, tolerancia a aguas de baja calidad, crecimiento y reproducción en diferentes medios; asimismo, la tilapia gris ha sido cultivada junto con carpas, bagres y langostino, y ha logrado tolerar altas densidades de cultivo, es comercializada en mercados internacionales como filete congelado y poseen un sabor agradable que es aceptado por muchas personas.

#### **a. Parámetros productivos del cultivo de tilapia gris**

- **Tasa de eficiencia proteica (TEP)**

Es la relación entre la ganancia de peso (en gramos) y la cantidad de proteína ingerida (en gramos). En otras palabras, la ganancia de peso que ofrece un kilogramo de proteína tal como

lo cita Abdel-Tawwab *et al.* (2010) (Ecuación 1).

$$\text{TEP} = \frac{(\text{Biomasa final (g)} - \text{Biomasa inicial (g)})}{\text{Proteína consumida (g)}} \quad \boxed{\text{Ecuación 1}}$$

Este mismo autor menciona que el TEP es afectado por la edad del pez y por el contenido proteico del alimento. En el cultivo de alevines de tilapia se ha reportado valores de TEP que van desde 1.35 a 1.44 empleando dietas balanceadas con 40 por ciento de contenido proteico (Labib y Ha 2012).

En cultivos donde se ofrece diferentes niveles de proteína, los valores de TEP disminuyen a medida que se aumenta el contenido proteico (20 por ciento: 2.09, 30 por ciento: 1.70, 40 por ciento: 1.32, 50 por ciento: 0.86) (Siddiqui *et al.* 1988); Jover *et al.* (1998) evaluó la TEP con dietas balanceadas cuyos niveles proteicos eran 30, 35 y 40 por ciento, consiguiendo valores de TEP de 2.07, 1.76 y 1.12, respectivamente, considerando que con un alimento del 30 por ciento de contenido proteico se obtiene un máximo aprovechamiento del nitrógeno ofrecido, teniendo como resultados óptimos para el crecimiento de alevines y juveniles de tilapia. En síntesis, la TEP tiene una relación directa con la ganancia de peso, dado que al presentar valores bajos estas son indicadores del exceso de amoniaco excretado que resulta tóxico y genera situaciones de estrés para el pez (Abdel-Tawwab *et al.* 2010).

En otras investigaciones, se ha evaluado el efecto de trabajar con diferentes densidades de cultivo, notándose que a menor densidad de cultivo, los valores de TEP resultan ser mejores (20 peces/m<sup>2</sup>: 1.51, 12 peces/m<sup>2</sup>: 2.34, 4 peces/m<sup>2</sup>: 2.56) por efecto del mejor aprovechamiento de la proteína ofrecida (Zonneveld y Fadholi 1991).

- **Valor de la proteína productiva (VPP, expresado en “%”)**

Este parámetro proteico relaciona la cantidad de proteína corporal ganada por el pez y la cantidad de proteína ingerida a través del alimento, tal como lo cita Abdel-Tawwab *et al.* (2010) (Ecuación 2).

$$\text{VPP} = \frac{(\text{Proteína final pez (g)} - \text{Proteína inicial pez (g)})}{\text{Proteína consumida (g)}} \times 100\% \quad \boxed{\text{Ecuación 2}}$$

Este parámetro expresa el porcentaje de proteína que la dieta aporta en el contenido corporal proteico del pez. El VPP es afectado directamente por el contenido de proteína de la dieta (Abdel-Tawwab *et al.* 2010).

En otras investigaciones con cultivos semi-extensivos de tilapia gris, Labib y Ha (2012) reportaron que el aporte proteico de la dieta balanceada confiere contenido corporal de los peces que alcanzan valores del 20 al 25 por ciento con altas tasas de conversión alimenticia (mayores a 2.20) (Labib y Ha 2012); mientras que en cultivos con alimentación parcial de hidrolizado proteico de langostino se consiguieron valores de VPP de 32 hasta 40 por ciento (Leal *et al.* 2010). Por último, Zonneveld y Fadholi (1991), buscaron establecer alguna relación entre el VPP y densidad de cultivo, obteniéndose que a mayor densidad de cultivo se da un menor VPP (20 peces/m<sup>2</sup>: 24.4 por ciento, 12 peces/m<sup>2</sup>: 38.7 por ciento, 4 peces/m<sup>2</sup>: 42.5 por ciento), por efecto de una mayor competencia por el alimento y un mínimo aprovechamiento de este, por parte de los peces.

- **Tasa de crecimiento absoluta y tasa de crecimiento específico (TC, g.día<sup>-1</sup>; TCE, %.día<sup>-1</sup>)**

La tasa de crecimiento absoluta (TC) expresa la ganancia de peso diario y la tasa de crecimiento específico (TCE) expresa la velocidad del crecimiento del pez. Las ecuaciones 3 y 4 detallan cada parámetro de acuerdo a lo propuesto por Jones (2002) y Ricker (1979).

$$TC = \frac{(\text{Biomasa final (g)} - \text{Biomasa inicial (g)})}{\text{Tiempo de cultivo (días)}} \quad \boxed{\text{Ecuación 3}}$$

$$TCE = \frac{(\ln(\text{Peso final pez (g)}) - \ln(\text{Peso inicial pez (g)}))}{\text{Tiempo de cultivo (días)}} \times 100\% \quad \boxed{\text{Ecuación 4}}$$

Los alevines de tilapia gris de acuerdo a sus condiciones de cultivo, han presentado amplias tasas de crecimiento. A continuación en la tabla 1, se presenta diferentes valores de estas tasas, de acuerdo a la modalidad de cultivo y el contenido proteico del alimento balanceado.

**Tabla 1: Tasa de crecimiento absoluta (TC) y tasa de crecimiento específica (TCE) de la tilapia gris, según diferentes autores.**

TC (g.día <sup>-1</sup> )	TCE (%.día <sup>-1</sup> )	CONT. PROTEICO DEL ALIMENTO (%)	FUENTE
0.19	9.40	35	El Sayed y Teshima (1992)
0.26	10.39	45	
0.10	3.90	35	Abdel-Tawwab <i>et al.</i> (2010)
0.14	4.29	45	
0.25	1.7	30	Espejo (2012)
0.42	4.47	30	Labib y Ha (2012)

- **Tasa de conversión alimenticia (TCA)**

Esta expresión numérica representa la cantidad de alimento consumido en base seca, que se requiere para producir un kilo de biomasa (Hanley 1991) (Ecuación 5).

$$TCA = \frac{\text{(Alimento consumido (g))}}{\text{Biomasa final (g) - Biomasa inicial (g)}} \quad \boxed{\text{Ecuación 5}}$$

Mediante este factor se logra determinar la relación costo-beneficio del alimento en la actividad acuícola (Ogello *et al.* 2014). La productividad primaria en los sistemas de cultivos, mejora el factor de conversión alimenticia, debido a la menor cantidad de alimento balanceado ofrecido al sistema. Otras condiciones de mejora de la TCA se da cuando se trabaja con óptimas condiciones de calidad de agua o cuando se siembra a bajas densidades de cultivo (Avnimelech *et al.* 2008).

Este factor está determinado por el nivel de proteína del alimento, la calidad del alimento y la edad del pez (Freitas *et al.* 2010, Siddiqui *et al.* 1988). Jover *et al.* (1998), reportan en alevines de tilapia que cuando se alimentan con una dieta del 25, 35 y 45 por ciento del contenido proteico se obtienen valores de TCA de 1.81, 1.65 y 1.49. En otros casos, se ha obtenido mejores resultados de este factor cuando se ofrece alimentos balanceados con 40 por ciento de proteína, en comparación con alimentos balanceados con 20 por ciento de proteína (1.32 y 2.09, respectivamente) (Jauncey 1982, Siddiqui *et al.* 1988) (Tabla 2).

**Tabla 2: Tasa de conversión alimenticia (TCA) en el cultivo de alevines de tilapia gris.**

TIPO DE ALIMENTO	ALIMENTO (Cont. Prot. %)	PESO (g)	TCA MIN	TCA MAX	FUENTE
Pellets	28	2 a 11	1.14	1.23	Furuya <i>et al.</i> (1998)
No especificado	45	0.2 a 6	0.76	0.82	Olivera <i>et al.</i> (1997)
Polvo	40	0.8 a 20	1.9	1.9	Siddiqui <i>et al.</i> (1988)
Pellets	37	3 a 40	1.35	1.73	Abdelghany (1997)
Pellets	34	0.5 a 28	0.98	1.46	Siddiqui y Alh (1995)
Polvo	40	1.5 a 16.4	1.05	1.28	Leal <i>et al.</i> (2010)
Extruido	38	1.7 a 36.8	1.14	1.48	Labib y Ha (2012)

Fuente: Modificado de El Sayed (2006).

- **Supervivencia (expresado en “%”)**

La supervivencia de una población expresa el porcentaje de la cantidad de individuos al final de la experimentación y al inicio, tal como se observa en la siguiente ecuación.

$$\text{Supervivencia} = \frac{(\text{Individuos al final})}{(\text{Individuos al inicio})} \times 100\% \quad \boxed{\text{Ecuación 6}}$$

La tilapia, debido a su tolerancia a diferentes tipos de cultivo, presenta diferentes valores de supervivencia; sin embargo se habla de una supervivencia aceptable del 70 al 90 por ciento cuando se trabaja con los rangos óptimos de temperatura y suficiente cantidad de oxígeno disuelto, baja densidad de siembra y una buena alimentación (Popma y Green 1990).

En sistemas semi-extensivos se ha reportado que a densidades de siembra de 0.01 pez.l<sup>-1</sup> y a óptimas condiciones de cultivo, se alcanzó una supervivencia del 95 por ciento (De Oliveira *et al.* 2007). Aun cuando se dan cultivos con temperatura frías (15°C) se consiguió supervivencias del 75 al 80 por ciento (Reidel *et al.* 2005, citados en Dos Santos *et al.* 2009); para el caso de sistemas intensivos Dos Santos *et al.* (2009) reportaron supervivencias del 90 al 99.3 por ciento en el cultivo de *O. niloticus* en tanques de cemento.

**b. Alimentación y nutrición de la tilapia gris**

**• Comportamiento alimenticio**

La tilapia es omnívora por ello presenta una variabilidad en cuanto a su hábito alimenticio que va desde el consumo de fitoplancton y zooplancton, detritos, plantas acuáticas, insectos, semillas de vegetales y alimento balanceado con diferentes contenidos proteicos. Además, este comportamiento se relaciona directamente con el manejo de la alimentación, específicamente con la frecuencia y tasa de alimentación.

Frecuencia de Alimentación: este aspecto depende de las fases del ciclo productivo y del comportamiento alimenticio de los individuos, abarcando valores desde 2 hasta 8 veces al día; pues se ha reportado que a varias frecuencias con menor cantidad de alimento por ración, se da un mejor aprovechamiento del alimento y menor desperdicio al medio ambiente (Meer *et al.* 1997). Para el caso del cultivo de alevines de tilapia, se han establecido diferentes frecuencias (Tabla 3) en horarios que van desde las 08:00 hasta 19:00 horas o dividido durante las 24 horas del día (Loures *et al.* 2008).

Tasa de Alimentación: es un punto clave entre la adecuada alimentación y minimización del impacto al medio ambiente, puesto que representa la cantidad de alimento ofrecido al día, en función de la biomasa aproximada. Dar un exceso de alimento, empeora el desempeño productivo del pez y reduce la calidad de agua (Furuya 2007 citado en Fávero *et al.* 2010). Se han reportado varias investigaciones donde buscan ajustar esta tasa, a consecuencia de que en el estadio de alevinaje se ofrece una dieta balanceada altamente proteica y que generan casos de eutrofización en el medio ambiente (Tabla 3).

**Tabla 3: Frecuencia y tasa de alimentación para estadios iniciales de la tilapia gris.**

FRECUENCIA DE ALIMENTACIÓN (veces.día <sup>-1</sup> )		TASA DE ALIMENTACIÓN (%)	
Popma y Green (1990)	2 – 4	De la Mora <i>et al.</i> (2003)	5 – 8
Phelps <i>et al.</i> (1995)	4	FONDEPES (2004)	6 – 10
Veracruz y Mair (1994)	6 – 8	Jauncey (1982)	6- 9

Fuente: Modificado de Loures *et al.* (2008).

- **Nutrición proteica**

El requerimiento del contenido proteico para la tilapia (Tabla 4), se establece de acuerdo a la edad del pez, calidad de la proteína del alimento, calidad del agua y condiciones del cultivo (Abdel-Tawwab *et al.* 2010, El Sayed 2003, Hanley 1991, Pérez y Capote 2000). Al establecer este requerimiento se considera la eficiencia en la producción, la eficiencia de la alimentación, la tasa de conversión alimenticia (TCA), la reducción de costos alimenticios y la disminución de la carga de nutrientes en el ecosistema acuático (Abdel-Tawwab y Ahmad 2009, El Sayed y Teshima 1992).

**Tabla 4: Exigencias del contenido proteico en el alimento balanceado para tilapia gris, en función al peso (g).**

PESO (g)	CONTENIDO PROTEICO DEL ALIMENTO (%)	
	Mínimo	Máximo
Menos de 1	45	50
1 – 5	40	45
5 – 25	35	40
25 – 100	28	35
100 a más	20	28

Fuente: Hisano y Portz (2007).

- **Nutrición lipídica**

El aporte de lípidos en la alimentación de los peces busca suplir sus requerimientos de ácidos grasos esenciales. Debido a ello, para la alimentación de tilapias el contenido lipídico del alimento debe ser de hasta el 10 por ciento; para lograr modificar la composición lipídica corporal del pez, denotando una relación de dependencia entre el alimento y el pez (Guillaume 2001). Sin embargo, Siddiqui *et al.* (1988) mencionan que el contenido lipídico en la dieta balanceada no genera un efecto significativo en el contenido de lípidos corporales de los peces. Según lo reportado por Hanley (1991), alimentos con contenidos lipídicos del 12 por ciento, desfavorecen el crecimiento y parámetros productivos de la tilapia cultivada; además de generar peces altamente grasos, poco agradables y con efectos en la calidad del pescado.

**c. Composición química proximal de la tilapia gris**

La composición química proximal para el caso de peces, es influenciada por varios factores, desde el tipo de especie, edad, sexo, alimento, medioambiente. Los principales componentes de los animales son agua, minerales (ceniza), lípidos, proteínas y carbohidratos (Santos *et al.*, 2012); esto se muestra en la Tabla 5.

**Tabla 5: Composición química proximal de la tilapia gris.**

REFERENCIA	COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL (%)					FUENTE
	H	CP	CL	CC	C	
(5–10 cm)	80.53	10.19	3.09	3.21	2.99	Santos <i>et al.</i> (2012)
(10–15 cm)	75.58	10.40	7.81	2.79	3.43	
(15–20 cm)	72.35	10.37	8.77	4.98	3.52	
(1.7 g)	73.96	15.04	4.53	3.04	3.43	Leal <i>et al.</i> (2010)
(16.7 g, 35% CP)	71.75	14.28	8.90	2.02	3.05	
(0.84 g)	69.19	17.97	6.17	0.87	5.80	Siddiqui <i>et al.</i> (1988)
(0.51 g, inicio)	81.31	9.72	5.98	-	2.99	Abdel-Tawwab <i>et al.</i> (2010)
(5.1 g, 25% CP)	71.60	15.40	9.70	-	3.3	
(7.7 g, 35% CP)	72.00	15.60	8.90	-	3.5	
(10.3 g, 45% CP)	72.50	16.00	7.80	-	3.7	
(17.44 g, 30% CP)	69.72	16.39	8.27	1.23	4.39	Jover <i>et al.</i> (1998)
(16.55 g, 35% CP)	69.88	16.71	7.62	1.14	4.65	
(14.69 g, 40% CP)	70.68	16.58	6.54	1.21	4.99	

Donde: H: humedad, CP: contenido proteico, CL: contenido lipídico, CC: contenido de carbohidratos, C: ceniza.

El contenido de humedad corporal de la tilapia es muy variable, reportándose valores desde 69 hasta el 81 por ciento (Siddiqui *et al.* 1988, Zonneveld y Fadholi 1991), debido a que este componente disminuye a medida que el pez crece (Santos *et al.* 2012). Para el caso de la ceniza, la cantidad de compuestos inorgánicos (minerales y otros) aumenta a la par que el pez aumenta en peso (Santos *et al.* 2012); Abdel-Tawwab *et al.* (2010), reportaron que se da

un aumento en el contenido de ceniza a medida que se aumenta el contenido de minerales del alimento debido a la mayor generación de residuos inorgánicos proveniente de la fuente alimentaria y del lugar de cultivo.

Santos *et al.* (2012), mencionan que el contenido proteico y lipídico del pez es afectado significativamente por el aporte proteico del alimento y la edad del pez. Estos componentes aumentan a medida que el pez aumenta su peso; Leal *et al.* (2010) afirman lo citado anteriormente, pero mencionan que el aumento se da en pequeñas cantidades. Abdel-Tawwab *et al.* (2010) trabajaron con un alimento altamente proteico (45 por ciento) y consiguieron altos contenidos proteicos en el cuerpo del pez (16 por ciento), necesarios para los primeros estadios de vida. Sin embargo, no existe interacción con el contenido lipídico del pez, puesto que disminuye a medida que se aumenta el contenido proteico del alimento.

La importancia del contenido proteico corporal, radica en definir los requerimientos del pez basados en la retención de aminoácidos para la formación del sistema fisiológico (Hanley 1991). Ante ello Van *et al.* (2011) propusieron determinar este contenido a través de la ecuación 7, empleando el peso del pez (g).

$$CP (\%) = 0.02 \times W + 15.86$$

Ecuación 7

Donde: CP: contenido proteico corporal en porcentaje, W: peso en gramos.

En el caso de la etapa de alevinaje, los lípidos participan en la formación de su sistema fisiológico y en el desarrollo de gónadas (Santos *et al.* 2012), además el contenido corporal lipídico de los peces tiende a incrementarse con la edad y disminuye cuando la temperatura de cultivo disminuye, es por ello que Van *et al.* (2011) proponen la siguiente ecuación para determinar el contenido lipídico corporal de la tilapia, empleando el peso del pez en gramos (g).

$$CL (\%) = 1.51 \times W^{0.18}$$

Ecuación 8

Donde: CL: contenido lipídico corporal en porcentaje, W: peso en gramos.

### 2.1.3. Calidad de agua en el cultivo de tilapia gris.

El punto determinante en el cultivo de peces es la calidad de agua. En el cultivo de tilapia se puede aprovechar la máxima producción cuando se presentan niveles adecuados de los parámetros físico-químicos (FONDEPES 2004); sin embargo, la tilapia se caracteriza por tolerar amplias variaciones de salinidad, temperatura, oxígeno disuelto, concentraciones de nitrógeno amoniacal total, entre otros parámetros (Nirchio y Pérez 2002), adaptándose a diferentes condiciones de calidad de agua (Luchini 2006). De acuerdo a Martínez (2006), se establece las condiciones favorables para los parámetros físico-químicos de la calidad de agua en el cultivo de la tilapia gris que se presenta en la Tabla 6.

**Tabla 6: Parámetros físico-químicos de la calidad del agua en el cultivo de tilapia gris.**

PARÁMETROS	UNIDAD	VALORES	FUENTE
Temperatura	°C	25.0 - 32.0	Kubitza (1999), Martínez (2006)
Oxígeno Disuelto	mg.l <sup>-1</sup>	4.0 - 9.0	FONDEPES (2004)
pH		6.5 - 9.0	Flores (2013), FONDEPES (2004)
Alcalinidad Total	mg.l <sup>-1</sup>	50 - 150	Dos Santos <i>et al.</i> (2009), FONDEPES (2004)
Nitrógeno Amoniacal Total	mg.l <sup>-1</sup>	< 0.1	Dos Santos <i>et al.</i> (2009), El Sayed (2006)
Nitritos	mg.l <sup>-1</sup>	< 0.1	Kubitza (1998), Luchini (2006)
Nitratos	mg.l <sup>-1</sup>	1.5 – 2.0	Martínez (2006)
Fosfatos	mg.l <sup>-1</sup>	0.15 -0.2	Martínez (2006)

### 2.2. Sistema biofloc (SBF)

El sistema biofloc, también conocido inicialmente como cultivo de suspensión activa o sistema con cero recambio de agua, empezó a desarrollarse a partir de los años noventa en el Centro de Maricultura Waddell en EE.UU., a mediados de esa década empezó a ser adoptada por cultivos comerciales en Centro América (Burford *et al.* 2003). En principio, el sistema biofloc se basa en la descomposición aeróbica y el mantenimiento de altas concentraciones de *floc* en suspensión (Avnimelech *et al.* 1986, Ray *et al.* 2010). Estas condiciones confieren una doble función a la tecnología, como control de la calidad del agua y como fuente alterna de alimentación para el cultivo (Azim *et al.* 2008).

Esta nueva tecnología, de producción acuícola superintensiva, tiene la finalidad de resolver los problemas de la calidad del agua en cultivos acuícolas (Avnimelech 2007), controlando el nitrógeno amoniacal mediante células fijadoras (Ebeling *et al.* 2006); o bajo otras condiciones, como las medidas de bioseguridad en la limitación del uso de agua, escasez de agua y tierra, y por último, la regularización ambiental que prohíbe la eliminación de efluentes sin ser tratados previamente (Avnimelech 2009).

La utilización de grandes volúmenes de agua en los cultivos acuícolas es contrarrestado por los sistemas biofloc, puesto que logra un máximo recambio de agua del 5 por ciento (principalmente por efectos de evaporación) desarrollando una nueva tendencia en los niveles de producción (Avnimelech 2007). Además, su potencialidad en cuanto a la reducción del impacto al medioambiente, debido a la excreción de nitrógeno, el SBF permite brindar un mayor aprovechamiento de este a través de los procesos de nitrificación y desnitrificación (Crab *et al.* 2007, De Schryver *et al.* 2008).

### **2.2.1. Dinámica del sistema biofloc**

La tecnología biofloc se caracteriza principalmente por la presencia de bacterias autotrófica-quimiosintéticas y bacterias heterotróficas, encargadas de la remoción del nitrógeno disuelto en el agua (Collazos y Arias 2015, Ray y Lotz 2014). Las primeras de estas bacterias, obtienen su energía desde compuestos inorgánicos como dióxido de carbono y nutrientes inorgánicos disueltos, como los compuestos nitrogenados (Hagopian y Riley 1998 citados en Ebeling *et al.* 2006); las segundas consiguen su energía a partir de la descomposición de los compuestos orgánicos a través de microorganismos (bacterias, protozoarios, hongos) y que se ven influenciadas por el pH, alcalinidad, temperatura, oxígeno disuelto, amoníaco y la salinidad (Timmons *et al.* 2002, Azim *et al.* 2008).

Las principales bacterias quimi-autótrofas son las bacterias amonio-oxidantes (AOB) y las bacterias nitrito-oxidantes (NOB). Las AOB captan su energía a partir del catabolismo del amoníaco no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), dentro de este grupo se encuentran las bacterias del género *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*, y *Nitrosovibrio*. Las NOB se encargan de oxidar el nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), se incluye dentro de este grupo, bacterias de los géneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrospina* y *Nitrosospira* (Timmons *et al.* 2002, Ebeling *et al.* 2006); finalmente mediante proceso de desnitrificación

(anaeróbico), se libera nitrógeno atmosférico (N<sub>2</sub>). La reacción química de estas bacterias (Collazos y Arias, 2015), se detalla a continuación:



Por otro lado las bacterias heterótrofas se encargan de mantener en concentraciones bajas los valores de NAT por medio del manejo de la relación Carbono:Nitrógeno (C:N); este factor estimula el crecimiento de la biomasa bacteriana (Avnimelech 1999, De Schryver y Verstraete 2009, Schweitzer *et al.* 2013), convirtiéndose en una importante fuente de proteína microbiana, y a la par, reduciendo los costos de producción (Crab *et al.* 2007, Ebeling *et al.* 2006). La siguiente reacción metabólica muestra la descomposición del amonio para transformarlo en biomasa bacteriana:



Estas bacterias se tornan más importantes que las bacterias autótrofas, puesto que son las primeras en aprovechar la mayor cantidad del nitrógeno inorgánico disuelto, principalmente NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Ebeling *et al.* 2006), a través de la metabolización de carbohidratos del alimento y la materia fecal o mediante una fuente externa de carbono, para la producción de proteína (Avnimelech 2006). Requiriendo relaciones C:N de 10 a 15:1 (Avnimelech 2012b), que garanticen suplir las dos vías de aprovechamiento de nitrógeno disuelto a pesar que las velocidades de asimilación sean distintas (Collazos y Arias 2015). La fuente externa de carbono orgánico les servirá como sustrato para su crecimiento, convirtiéndose en característica intrínseca de este sistema de cultivo (Avnimelech 2006). Además, le permitirá inmovilizar el nitrógeno inorgánico, resultando que, para convertir el amonio proveniente del amoniaco en proteína microbiana se necesita bajos niveles de oxígeno disuelto, a comparación con el proceso de nitrificación por parte de las bacterias autótrofas (Azim y Little 2008); asimismo la tasa de crecimiento de la biomasa microbiana, en el caso de organismos heterótrofos, resulta ser 10 veces más que el de los organismos autótrofos (Hargreaves 2006, Crab *et al.* 2007).

El nitrógeno asimilado para la formación de la proteína microbiana, proviene directa (alimento no consumido) e indirectamente (materia fecal) de la proteína del alimento (Burford *et al.* 2004). La formación de esta proteína representa desde el 20 al 30 por ciento

del nitrógeno presente en el agua (De Schryver y Verstraete 2009). El empleo de esta proteína microbiana depende del hábito alimenticio - habilidad para consumir, digerir y aprovechar la proteína (Avnimelech 1999, Hari *et al.* 2004) - y la adaptabilidad del recurso a este nuevo sistema de cultivo.

Avnimelech (2007) y Burford *et al.* (2003), recomiendan controlar y desarrollar la comunidad heterótrofa alcanzando densidades de  $10^7$  UFC.ml<sup>-1</sup>. Lo anterior se consigue a través de un adecuado manejo de la calidad del agua en los sistemas biofloc, es por ello de su dificultad, dado que este eficiente manejo está en función de la interrelación entre los principales parámetros físico-químico del agua. De esta manera se logra obtener densidades altas de bacterias heterótrofas en ambientes con alta aireación constante y mezcla continua en la columna de agua (Avnimelech *et al.* 2008, Azim y Little 2008, Hargreaves 2006).

El sistema biofloc puede convertirse en una fuente eficaz de nutrientes para el langostino y varios peces, entre estos, la tilapia (Avnimelech *et al.* 2008); por efecto del reciclaje de proteína por parte de los microorganismos aeróbicos (Hari *et al.* 2004, McIntosh 2000). Sin embargo aún existe mucho más por investigar en esta tecnología. En resumen, el sistema biofloc ofrece:

- Menor impacto en el medio ambiente, debido al mínimo uso del recurso hídrico y tierra y a la remoción-reaprovechamiento de los compuestos nitrogenados disueltos en el agua (De Schryver *et al.* 2008, De Schryver y Verstraete 2009).
- Disminución del nitrógeno amoniacal total en los sistemas de cultivo y formación de sedimento que contribuyen en la alimentación y salud de los organismos (Avnimelech y Ritvo 2003, Hari *et al.* 2004).
- Aprovechamiento al máximo de la proteína del alimento, generando a partir de éste, una proteína microbiana que es útil para los cultivos acuícolas (Burford *et al.* 2004, De Schryver y Verstraete 2009).
- Altas tasas de crecimiento y supervivencia en el cultivo de langostinos y peces (Avnimelech 2006, Hari *et al.* 2004, Wahab *et al.* 2003).
- Alcanzar altas cargas de biomasa en rangos de 10 a 40 Kg.m<sup>-3</sup> (Avnimelech 2007).
- Adecuarse a diferentes condiciones del cultivo, desde el lugar hasta la facilidad de obtener los insumos necesarios para desarrollar esta tecnología.
- Minimizar el riesgo de enfermedades en cultivos acuícolas (Schock *et al.* 2013).

## 2.2.2. Calidad de agua del sistema biofloc

En este sistema de cultivo, los parámetros físico-químico del agua se interrelacionan para poder mantener su estabilidad, evitando altas fluctuaciones de pH y alcalinidad, altas cantidades de compuestos nitrogenados disueltos tóxicos ( $\text{NH}_3$  y  $\text{NO}_2^-$ ), entre otros (Azim *et al.* 2008).

### a. Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )

La temperatura del agua en cultivos acuícola con sistemas biofloc, es influenciado por las condiciones climatológicas del lugar del cultivo (De Schryver *et al.* 2008). La temperatura del agua en cultivos de peces tropicales, tal como la tilapia, en sistema biofloc han alcanzado valores desde 26 a 30 $^{\circ}\text{C}$  con excelentes resultados en el crecimiento del pez (Azim y Little 2008, Azim *et al.* 2008); sin embargo Crab *et al.* (2009), al cultivar tilapias en un invernadero, reportaron temperaturas desde 14 hasta 20 $^{\circ}\text{C}$  durante meses de invierno, obteniendo excelentes resultados productivos debido a la influencia de la temperatura en las bajas concentraciones de nitrógeno tóxico disuelto.

La temperatura juega un papel fundamental en esta tecnología dado que determina el metabolismo microbiano y establece una relación con la cantidad de oxígeno disuelto en el agua (Boyd 1998). Por ello que su influencia es muy variable, debido a que afecta a todos los parámetros inmiscuidos en el manejo. Con respecto a la formación de *floc*, Wilén *et al.* (2000) reportaron casos de floculación a temperatura de 4 $^{\circ}\text{C}$ , como respuesta de la disminución de la actividad microbiana. Por otro lado, a altas temperaturas (alrededor de 35 $^{\circ}\text{C}$ ) se genera un aumento excesivo de sólidos suspendidos totales ( $\text{SST} > 500 \text{ mg.l}^{-1}$ ), por efecto de la producción de polisacáridos celulares, por lo que se recomienda un rango de temperaturas que van de 20 a 27 $^{\circ}\text{C}$ , para obtener SST de alrededor 200  $\text{mg.l}^{-1}$  (De Schryver *et al.* 2008).

### b. Oxígeno disuelto ( $\text{mg.l}^{-1}$ )

La concentración de oxígeno disuelto es esencial para la actividad metabólica de las bacterias heterótrofas aeróbicas y en la estructura de los flóculos. Wilén y Balmer (1999) mencionan una tendencia hacia el desarrollo de flóculos con mayor tamaño cuando se trabaja con altas

concentraciones de oxígeno disuelto, esto se puede atribuir a la presencia de bacterias filamentosas, quienes presentan mayor afinidad con el oxígeno (Martins *et al.* 2003).

Al oxigenar el agua en los sistemas, deben suplir lo siguiente: las necesidades de respiración de la especie (Avnimelech 1999, Hargreaves 2013, McIntosh 2001, Ray *et al.* 2010), la respiración y los requerimientos de las bacterias presentes en el sistema (Timmons *et al.* 2002), y por último, mantener los *floc* en suspensión constante para evitar la sedimentación y acumulo de sólidos que puedan desencadenar reacciones anaerobias, no recomendable para estos cultivos.

Además, el oxígeno disuelto determina la eficiencia de la fuente externa de carbono orgánico (De Schryver *et al.* 2008), puesto que en la descomposición de la materia orgánica, la bacterias necesitan de la presencia de oxígeno (Azim *et al.* 2008); asimismo, la adición de la fuente de carbono orgánico conlleva a bajas concentraciones de oxígeno disuelto en el cultivo, ocasionando muerte en los peces (De Schryver y Verstraete 2009).

Crab *et al.* (2009), reportaron concentraciones de oxígeno disuelto entre 9 y 10 mg.l<sup>-1</sup> en cultivos de tilapia en sistema biofloc, durante meses de invierno (temperaturas bajas), explicándose la relación indirecta entre la temperatura y el oxígeno disuelto (Boyd 1998). Por otro lado, bajo condiciones normales de cultivo, se logra trabajar con éxito con concentraciones de 6 mg.l<sup>-1</sup> (rango: 4 a 7.5 mg.l<sup>-1</sup>) en cultivos de sistemas biofloc con peces tropicales (Azim y Little 2008, Azim *et al.* 2008).

### **c. pH**

Este parámetro resulta difícil de controlar en los sistemas biofloc (Mikkelsen *et al.* 1996 citados en De Schryver *et al.* 2008), porque guarda relación directa con los procesos bacterianos, repercutiendo en la mortalidad y el disfuncionamiento del pez. Debido a ello, se procura mantener equilibrado el pH (>6.5) mediante la adición de fuente de carbonato, como el bicarbonato de sodio (Shnel *et al.* 2002).

A altos valores de pH (7.8 a 8.0) las *Nitrosomonas* se desarrollan con normalidad, mientras que a bajos valores de pH (7.0 a 7.5) es más favorable para los *Nitrobacter* (Hargrove *et al.* 1996). Azim y Little (2008) recomiendan que el pH del cultivo debe ubicarse entre 6.5 hasta

8.5, asegurando de tal modo el factible crecimiento de las bacterias autótrofas y heterótrofas. Mantener el pH cerca de 7, minimiza el estrés causado por el amoníaco. Además al bajar el pH estimula la oxidación del nitrógeno amoniacal total (NAT), por ende a los nitritos; pero si se trabaja con pH por debajo de 5, se limita la producción de las bacterias encargadas (Burford *et al.* 2003). Además de ello, Azim *et al.* (2008) reportaron, que este parámetro varió significativamente (desde 4.61 hasta 8.02) en tratamientos de sistemas biofloc con diferentes contenidos proteicos en el alimento (22 por ciento de contenido proteico se obtuvo un pH de 7.05, 35 por ciento de contenido proteico se obtuvo un pH de 7.35).

**d. Alcalinidad ( $\text{mg.l}^{-1}$ )**

La alcalinidad en los sistemas biofloc tiende a perder su capacidad buffer por efecto de los procesos biológicos que se realizan ( $40$  a  $100 \text{ mg CaCO}_3.\text{l}^{-1}$ ); sin embargo Collazo y Arias (2015), mencionan que para producciones en sistemas biofloc se ha logrado trabajar con concentraciones de alcalinidades por encima de  $50 \text{ mg CaCO}_3.\text{l}^{-1}$  (pH: 7–9).

Para el caso del proceso de nitrificación, donde se liberan iones de  $\text{H}^+$ , se disminuye los niveles de alcalinidad (Hari *et al.* 2006), al igual que en el proceso de respiración de los microorganismos (Azim *et al.* 2008); es por ello que se requiere de la adición de fuentes de carbonatos para amortiguar la variabilidad del pH y controlar la alcalinidad hasta  $250 \text{ mg CaCO}_3.\text{l}^{-1}$  (Azim y Little 2008). Asimismo, este parámetro químico del agua es influenciado por la fuente de carbono orgánico a la hora de asimilar el NAT ( $3.57 \text{ g CaCO}_3.\text{g NAT}^{-1}$ ) y en la producción de sólidos suspendidos (Ebeling *et al.* 2006).

**e. Nitrógeno inorgánico disuelto ( $\text{NAT}+\text{NO}_2+\text{NO}_3$ ,  $\text{mg.l}^{-1}$ )**

Los compuestos nitrogenados disueltos provienen del contenido proteico del alimento, dado que los organismos acuáticos excretan alrededor del 80% del nitrógeno ofrecido (Avnimelech y Ritvo 2003, Avnimelech 2006, Avnimelech y Kochba 2009), acumulándose en el agua como nitrógeno amoniacal total NAT (90 por ciento) y urea (10 por ciento) (Avnimelech 2006, Ebeling *et al.* 2006). Es por ello que se requiere de nitrógeno para la formación de proteína microbiana (Burford *et al.* 2003). El nitrógeno inorgánico es inmovilizado, cuando el sustrato orgánico se adiciona en altas relaciones C:N (Avnimelech 1999, Avnimelech 2006, De Schryver *et al.* 2008); luego a través de la acción de las bacterias nitrificantes se logran oxidar en nitritos ( $\text{NO}_2$ ) y nitratos ( $\text{NO}_3$ ) (Avnimelech 1999).

Azim *et al.* (2008) reportaron altas tasas de nitrificación y acumulación de nitratos, con concentraciones inestables de NAT y NO<sub>2</sub>, y concentraciones estables y acumulativas de NO<sub>3</sub>. El aprovechamiento del nitrógeno por parte de la tecnología biofloc, permite mantener mínimas concentraciones de NAT y NO<sub>2</sub>. Además Hari *et al.* (2006) y Shnel *et al.* (2002), encontraron valores menores a 1 mg NAT.l<sup>-1</sup> y 2 mg NO<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, y un amplio rango de nitratos que van desde 40 hasta 150 mg.l<sup>-1</sup> en cultivos de tilapia.

**f. Fósforo - ortofosfato (mg.l<sup>-1</sup>)**

Según Silva *et al.* (2013), el fósforo producido en acuicultura proviene de la excreción y descomposición de los alimentos no consumidos. Además, a diferencia de amoníaco, el fósforo no se pierde en la atmósfera y por lo que generalmente se retira del agua a través del fitoplancton o procesos biológicos químicos que ocurren en el sedimento. Este nutriente no ha reportado problemas de toxicidad pero debe considerarse que al estar presente en altas concentraciones puede conducir a la aparición de floraciones de cianobacterias nocivas en los sistemas de cultivo (Anderson *et al.* 2002 citado en Silva *et al.* 2013).

El SBF está diseñado para utilizar los nutrientes presentes, debido a que la mínima renovación de agua no permite la eliminación de fósforo; además el fósforo no se puede perder a presión atmosférica, por lo que se da el aumento de sus concentraciones. Las concentraciones de fosfato proveniente del ortofosfato, en sistemas biofloc han fluctuado entre 60 y 70 mg.l<sup>-1</sup> (Shnel *et al.* 2002). Sin embargo, Schneider *et al.* (2006) encontraron valores de 4.8 g de fosfato por kilo de alimento ofrecido.

**g. Sólidos**

La generación de sólidos es una particularidad de la tecnología biofloc, puesto que es una medida indirecta de la cantidad de proteína microbiana presente en el sistema. Los sólidos suspendidos totales (SST) y sólidos sedimentables (SS), resultan ser las mediciones más representativas e influyentes en el cultivo. Se ha logrado trabajar con valores de SST por encima de 1,000 mg.l<sup>-1</sup>, pero se han reportado obstrucciones en las branquias de los peces (Azim y Little 2008, Little *et al.* 2008), es por ello que se recomienda establecer como concentraciones de SST valores que fluctúen entre 200 a 500 mg.l<sup>-1</sup>, evitando de este modo casos de estrés (Avnimelech 2006, Avnimelech y Kochba 2009).

Asimismo, evitar posibles complicaciones al contar con bajas concentraciones de oxígeno disuelto, teniendo como resultado zonas anaeróbicas muy tóxicas para los peces (De Schryver *et al.* 2008). Es por ello que se realiza un manejo de drenaje de los sólidos con la finalidad de disminuir su concentración, generadas por la formación de la proteína microbiana a partir de la adición de una fuente de carbono orgánico (Crab *et al.* 2009), al igual que minimizar las concentraciones de los compuestos tóxicos (De Schryver *et al.* 2008).

### **2.2.3. Procedimiento de manejo del sistema biofloc**

#### **a. Balance de la relación C:N con una fuente de carbono orgánico**

El carbono es uno de los nutrientes limitantes en los sistemas de producción acuícola (De Schryver y Verstraete 2009), por lo que la tecnología biofloc recurre a la adición de una fuente de carbono orgánico, que sea capaz de contrarrestar la acumulación del nitrógeno inorgánico – en sus formas tóxicas  $\text{NH}_3$  y  $\text{NO}_2$  – potencializando la formación de una proteína, reciclada principalmente por bacterias heterótrofas y que es aprovechable para pequeños peces y crustáceos (Avnimelech 1999, Ebeling *et al.* 2006, Hari *et al.* 2004, Schneider *et al.* 2005).

Fuente de carbono orgánico: permite evitar el deterioro de la calidad del agua. Se han registrado varias fuentes de carbohidratos en sistemas biofloc, para controlar la relación C:N; sin embargo la elección de una específica fuente viene de la mano de las condiciones de cultivo, disponibilidad del recurso en la zona, aspectos económicos, contenido de carbono, y del contenido de proteína del alimento - menor contenido proteico, conlleva a mayores relaciones C:N - (Avnimelech 1999, Hargreaves 2006, Hari *et al.* 2004) (Tabla 7).

Como se observa en la tabla 7, las fuentes de carbono son muy diversas pero cumplen una misma finalidad. Entre las más comúnmente utilizada, se encuentran el almidón, la harina de yuca y la melaza (Asaduzzaman *et al.* 2010, Crab *et al.* 2009, Hari *et al.* 2004). La melaza es empleada en el proceso de formación de proteína microbiana, debido a su bajo costo (alrededor de 0.3 US\$ a 1.2 US\$ por kilo). Además también es empleada en procesos de fermentación anaeróbica, desnitrificación, etc. (Burford *et al.* 2003, Quan *et al.* 2005); la composición química proximal de la melaza es favorable porque casi no contiene nitrógeno,

ni ceniza (Ugalde y Castrillo 2002), y presenta contenidos de carbono que van desde 25 hasta 50 por ciento (Avnimelech 2011, Burford *et al.* 2003, De Schryver *et al.* 2008, Emerenciano *et al.* 2012a, Monroy *et al.* 2013, Schneider *et al.* 2006).

**Tabla 7: Fuentes de carbono orgánicos empleados en el sistema biofloc.**

FUENTE DE CARBONO	CULTIVO	FUENTE
Acetato	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Crab <i>et al.</i> (2010)
Celulosa	<i>Oreochromis sp.</i>	Avnimelech <i>et al.</i> (1986)
Harina de maíz	<i>Oreochromis sp.</i>	Asaduzzaman <i>et al.</i> (2010)
Dextrosa	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Suita (2009)
Glicerol	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Crab <i>et al.</i> (2010)
Melaza	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Burford <i>et al.</i> (2004); Samocha <i>et al.</i> (2007)
Harina de sorgo	<i>Oreochromis sp.</i>	Avnimelech <i>et al.</i> (1986)
Harina de trigo	<i>Oreochromis niloticus</i>	Azim y Little (2008)
Almidón	<i>Oreochromis sp.</i>	Avnimelech (2007), Crab <i>et al.</i> (2009)

Fuente: Modificado de Emerenciano *et al.* (2012b).

Relación Carbono:Nitrógeno (C:N): es un índice de la velocidad de descomposición de la materia orgánica (Hari *et al.* 2004). Si la materia orgánica es baja en contenido de nitrógeno inorgánico, se debe a su aprovechamiento en el crecimiento microbiano (Avnimelech 2006, Azim *et al.* 2008, Azim y Little 2008, Ebeling *et al.* 2006, Hari *et al.* 2006); también se le atribuye a la buena aireación (altas concentraciones de oxígeno) y circulación del flujo del sistema (Avnimelech *et al.* 1986, Avnimelech 1999, Hari *et al.* 2004).

En la mayoría de investigaciones esta relación C:N se encuentran en rangos que van desde 10:1 hasta 30:1 (Avnimelech 1999, Avnimelech 2009, Azim *et al.* 2008, De Schryver *et al.* 2008, Hari *et al.* 2006, McIntosh 2000), sin embargo se adecuan de acuerdo a las condiciones de cultivo y a la especie. Asaduzzaman (2008) recomienda que para el cultivo de tilapia se debe trabajar con relaciones C:N que van de 10:1 – 20:1; sin embargo Goldman *et al.* (1987), encontraron que la relación C:N de 10:1 es adecuada para a la reducción mínima del amoníaco en casos de tratamiento de agua, mientras que Avnimelech (2012a) manifestó que llegó a trabajar a relación de 10:1, obteniendo excelentes resultados en performance del cultivo de tilapia.

En experimentos mucho más específicos, se ha probado varias relaciones C:N para determinar una óptima relación para una determinada especie bajo condiciones de cultivo establecidas; por ello en la elaboración de los biorreactores del sistema biofloc, De Schryver y Verstraete (2009) determinaron que a una relación de 15:1 se da mayor eficiencia de remoción de nitrógeno (alrededor del 98 por ciento), caso contrario a lo establecido por Schneider *et al.* (2006), quienes afirman que a una relación de 12:1 a 13:1, se da la remoción al 85 por ciento bajo las mismas condiciones. Sin embargo años después, Hargreaves (2006) sugirió una relación C:N de 10:1 para promover el crecimiento bacteriano y aumentar la eficiencia de eliminación de nitrógeno.

**b. Manejo de la alcalinidad en sistemas biofloc mediante la adición de una fuente de carbonato**

El sistema biofloc requiere del mantenimiento de reservas alcalinas, con la finalidad de equilibrarlas en el sistema. La disminución de éstas, se debe principalmente a los procesos realizados por las bacterias responsables de la nitrificación, los que a pesar que se produzca menor cantidad de biomasa microbiana, y bacterias heterótrofas, estas consumen alrededor de la mitad de la reserva alcalina para la producción de la biomasa microbiana, bajo las mismas condiciones de consumo de niveles de oxígeno disuelto (Furtado 2011). Las bacterias heterótrofas son las encargadas de liberar grandes concentraciones de CO<sub>2</sub> a los sistemas biofloc, pudiendo ocasionar serios problemas en los cultivos de peces (Hargreaves 2013) o caso contrario, reducir drásticamente los niveles de pH (Ebeling *et al.* 2006).

Mejía (2014) afirma que en sistemas intensivos – cuando se presenta predominancia de las bacterias nitrificantes – por cada kilogramo de alimento ofrecido el sistema, este debe ser suplementado con 0.250 Kg de fuente de carbono inorgánico bajo la forma de bicarbonato de sodio, de este modo se consigue aumentar la alcalinidad por arriba de 100 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>. Wangchai *et al.* (2004) mencionan que el carbonato de calcio no resultó efectivo para elevar las concentraciones de alcalinidad. Otras investigaciones realizadas por Furtado (2011), llegó a comprobar que se consigue elevar la alcalinidad de los sistemas biofloc mediante el uso de hidróxido de calcio y de bicarbonato de sodio.

En la mayoría de cultivos con SBF, la utilización de una fuente de reservas alcalinas se condiciona a la disponibilidad y precio de estos insumos; es por ello que se dan alternativas

como es el caso del uso de hidróxido de calcio “Ca(OH)<sub>2</sub>” que tiene un peso molecular de 74 g y es capaz de disolverse en agua además de contar con un elevado poder neutralizante (132 por ciento), y reactividad del 62 por ciento. El Ca(OH)<sub>2</sub> sirve como fuente de reserva alcalina que eleva el pH bruscamente, por lo que se debe tener mayor consideración en su manejo (Whangchai *et al.* 2004).

#### **2.2.4. Aporte nutricional del sistema biofloc**

El sistema biofloc está conformado por una ecología de flóculos diversa en cuanto a tamaño, densidad, y aporte nutricional (Avnimelech 2006, Azim *et al.* 2008, Choo y Caipang 2015). Es considerado como un nicho altamente enriquecido, junto con la presencia de una variedad de organismos como algas, protozoarios, rotíferos, oligoquetos, etc., quienes también aprovechan la materia orgánica presente en el cultivo (Avnimelech 2006, Lima *et al.* 2015). El *floc* se adhiere a través del mucus secretado por las bacterias heterótrofas o por acción electrostática (Hargreaves 2013).

La calidad del floc está relacionada a sus características morfológicas, su valor nutricional, la digestibilidad de la especie, valor nutricional del alimento y densidad de las partículas suspendidas (Azim y Little 2008, De Schryver *et al.* 2008, Hargreaves 2006). En cuanto a su aspecto nutricional, proporciona nutrientes esenciales como proteínas, lípidos, ácidos grasos esenciales, minerales, vitaminas, metales trazas, carotenoides y enzimas digestivas exógenas (Bakar *et al.* 2015, Ekasari *et al.* 2010, Ju *et al.* 2008, Xu y Pan 2012) que pueden ayudar a ahorrar aproximadamente un 30 por ciento del costo destinado a la alimentación (Avnimelech 2006). Además existen importantes nutrientes que De Schryver *et al.* (2008) reportaron durante su investigación, estos nutrientes son los encargados de almacenar la materia orgánica: los poli-β-hidroxibutiratos, propios de células microbianas, y otros componentes como β-1,3-glucano, lipopolisacáridos y peptidoglucanos, que participan en la activación del sistema inmune de los organismos cultivados (Ekasari *et al.* 2015).

La composición químico proximal del *floc* es variable en cuanto a sus contenidos de proteína y lípidos, que determinan la viabilidad de este sistema como proveedores de alimento en acuicultura. Azim y Little (2008) encontraron que el biofloc contenía 38 por ciento de proteínas, 3 por ciento de lípidos, 6 por ciento de fibra, 12 por ciento de cenizas y 19 kJ.g<sup>-1</sup> de energía (en base seca), información ligeramente diferente a la reportada por Tacon *et al.*

(2002), quienes en cultivos SBF de *L. vannamei* trabajaron con *floc* cuyo contenido proteico se encontró entre 35 y 38 por ciento de proteína, 5-9 por ciento de lípidos, 7-10 por ciento de cenizas, y 18 kJ.g<sup>-1</sup> de energía (en base seca).

La calidad nutricional del *floc* se ve afectada en principio por el tiempo, la relación C:N, fuente de carbono orgánico, tipo de comunidad microbiana desarrollada, entre otros aspectos (Avnimelech 2007, Caipang *et al.* 2015, Ekasari *et al.* 2014, López *et al.* 2015). En cuanto al valor nutricional del alimento, se ha reportado su influencia en la calidad de los flóculos, sin embargo cuando Azim *et al.* (2008) trabajaron con diferentes alimentos (35 por ciento y 22 por ciento de contenido proteico) no presentaron diferencias significativas en su composición químico proximal del *floc*, dado que se podría atribuir en que en ambos tratamientos se trabajó bajo una misma relación C:N (5.5:1 y 6:1) (>50 por ciento de proteínas, 2.5 por ciento de lípidos, 4 por ciento de fibra, 7 por ciento de cenizas y 22 kJ.g<sup>-1</sup> de energía (en base seca)). Por otro lado, Nahar *et al.* (2015) mencionaron que en el cultivo de alevines de *O. niloticus* en SBF, alimentados con una dieta extruida con 40 por ciento de contenido proteico, el contenido de proteínas del *floc* fue de 14.4 por ciento, 3.45 por ciento de lípidos y 27.5 por ciento de cenizas.

#### Fuente de proteína

Esta tecnología sirve como fuente de proteína y estimulación en la producción de enzimas digestivas (proteasas y proteinasas), permitiendo la digestión y retención de proteína, mejorando el crecimiento de los individuos (Xu *et al.*, 2012a). De Schryver y Verstraete (2009), afirman que a mayor relación C:N se produce un mayor contenido de proteína en el *floc* (C:N5: 20 por ciento de contenido proteico; C:N10: 54 por ciento de contenido proteico; C:N15: 61 por ciento de contenido proteico), así también Xu *et al.* (2012b) reportaron que en el cultivo de *L. vannamei*, se da diferencias significativas en el contenido proteico del biofloc, con alimentos con diferente contenido proteico.

#### Fuente de lípidos

Varias investigaciones han obtenido contenidos lipídicos en el *floc* que abarcan del 2 al 5 por ciento (Azim y Little 2008, Azim *et al.* 2008, Crab *et al.* 2010), sin embargo Emerenciano *et al.* (2012b) reportaron contenidos lipídicos de 0.47 por ciento, a pesar que

en la alimentación se ofrecía alrededor del 10 por ciento de lípidos en bruto. El enunciado anterior confirma el poco aprovechamiento de los lípidos por esta tecnología, además de la insuficiente cantidad de lípidos que puedan suplir los requisitos de la tilapia (5 al 12 por ciento) (Lim *et al.* 2009), por lo que se recomienda enriquecer el SBF mediante inóculos de microalgas.

### **2.2.5. Cultivo de tilapia gris en sistema biofloc**

La acuicultura de la tilapia durante los últimos años, se ha tecnificado en el manejo de la calidad de agua, alimentación, ciclos productivos, entre otros; debido a su alta demanda de consumo, producto del crecimiento poblacional mundial. La facilidad de adaptación de la tilapia de alimentarse, asimilar y tolerar el *floc* suspendido, ha permitido su desarrollo en los sistemas biofloc (Avnimelech 2011, Lima *et al.* 2015, López *et al.* 2015).

La interacción del cultivo de tilapia con la iniciante tecnología *biofloc*, ha brindado beneficios que se basan en el mayor aprovechamiento de los nutrientes, la mejora de los niveles de producción, la reducción del uso de agua y tierra, la disminución de los impactos ambientales y la minimización del uso de harina de pescado (Avnimelech 2007, Azim y Little 2008, Choo y Caipang 2015, Crab *et al.* 2009, López *et al.* 2015, Widanarni *et al.* 2012).

El aprovechamiento de la proteína microbiana por parte de la tilapia, ha generado ganancias de peso hasta el 44 por ciento y reducción de la TCA (Azim y Little 2008), además de incrementar las densidades de cultivo entre 10 a 40 kg/m<sup>3</sup> (Hargreaves 2013, Avnimelech 2005, Avnimelech 2007, Avnimelech 2012b).

Esta tecnología ayuda a aumentar la inmunidad de los peces cultivados (Ekasari *et al.* 2015) y permite incrementar las densidades entre 10 a 40 kg.m<sup>-3</sup> (Hargreaves 2013, Azim y Little 2008, Avnimelech 2005, Avnimelech 2007, Avnimelech 2012b), producto de las altas tasas de supervivencia que van por encima del 90 por ciento (Azim y Little 2008, Lima *et al.* 2015). En la actualidad, varias investigaciones se vienen realizando en torno al sistema biofloc, abarcando diferentes temas, como la calidad de agua, parámetros productivos, alimentación y nutrición, comportamiento y salud de la tilapia (Tabla 8).

**Tabla 8: Investigaciones realizadas en el cultivo de la tilapia gris en sistemas biofloc.**

TEMA	FUENTE
Parámetros productivos	Azim y Little (2008), Avnimelech (1999), Crab <i>et al.</i> (2009), Lima <i>et al.</i> (2015), Luo <i>et al.</i> (2014), Widanarni <i>et al.</i> (2012).
Calidad de agua	Avnimelech (1999), Avnimelech (2009), Azim <i>et al.</i> (2008), Monroy <i>et al.</i> (2013), Pérez <i>et al.</i> (2016), Shnel <i>et al.</i> (2002).
Alimentación y nutrición	Avnimelech (2007), Ekasari <i>et al.</i> (2014), López <i>et al.</i> (2015).
Salud	Azim y Little (2008), Ekasari <i>et al.</i> (2015), Long <i>et al.</i> (2015), Luo <i>et al.</i> (2014), Martins <i>et al.</i> (2009).

**a. Composición química proximal corporal de la tilapia cultivada en sistemas biofloc**

La tilapia, cuyo hábitos alimenticio es considerado como omnívoro, se alimenta por filtración, por lo que fácilmente se adapta al sistema biofloc (Dempster *et al.* 1995). La presencia del *floc* no significa que se asuma como la totalidad de alimento para cultivos acuícolas, más bien se ve como el alimento recuperado a través del reciclaje de la proteína (ecoeficiencia) (Magondu *et al.* 2015). Zhou *et al.* (2009) consideran que la composición química proximal de los individuos cultivados es consecuencia del alimento consumido y presencia de enzimas exógenas (fisiología).

Azim y Little (2008) indicaron que el contenido corporal de lípidos y proteínas en tilapias cultivadas en SBF, no presentaron diferencias significativas al trabajar con diferentes dietas balanceadas; al igual, Long *et al.* (2015) no observaron diferencias significativas en el contenido proteico y de ceniza del cuerpo de los peces, al comparar con un sistema de recirculación.

De acuerdo con Xu y Pan (2012), el sistema biofloc puede influir en la composición corporal del organismo cultivado, principalmente en el contenido de proteínas y lípidos. Izquierdo *et al.* (2006) encontraron que el contenido de lípidos del cuerpo del camarón cultivado en SBF va en aumento, esto se puede atribuir a los aminoácidos esenciales, ácidos grasos y otros elementos nutricionales proporcionados por el biofloc (Ju *et al.* 2008). Por el contrario, Luo *et al.* (2014) no encontraron diferencias entre el contenido de lípidos del pescado.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

La etapa Pre-Experimental tuvo una duración de 70 días, mientras que la etapa experimental duró 58 días. Ambas etapas se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de Maricultura Sustentable (LAMARSU) del Departamento de Ingeniería de Pesca y Acuicultura de la Universidad Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), situado en Recife, Brasil. Los análisis químicos proximales se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Planta, Ración y Agua (LAPLA) del Instituto Agronómico de Pernambuco (IPA), situado en Recife, Brasil.

#### 3.2. Etapas

La presente investigación comprendió dos etapas: la pre-experimental y la experimental.

##### 3.2.1. Etapa pre-experimental

###### a. Acondicionamiento y preparación de los bioreactores del SBF

Se acondicionaron cuatro tanques rectangulares de fibra de vidrio de 0.4 x 1.5 m<sup>2</sup>, con capacidad máxima de 400 litros. Cada uno de estos contó con un sistema de aireación, proveniente de una bomba de aire marca *SWEETWATER* de 1 HP, que distribuía el aire a través de una tubería de ¾” y se unía a un marco rectangular de tuberías ½” de diámetro, perforadas y unidos a manguerillas de silicona de ½” de diámetro (Figura 2).



Figura 2: Tanques de bioreactores del sistema biofloc a diferentes relaciones C:N.

La preparación de los biorreactores de Biofloc con diferentes relaciones C:N de 10:1, 15:1 y 20:1 (CN10, CN15 y CN20, respectivamente) se llevó a cabo mediante el llenado de 350 litros de agua subterránea con las características físico-químicas que se muestran en la Tabla 9, además se adicionó un inóculo de 2 litros de biofloc proveniente de un biorreactor maduro con una relación C:N de 12:1.

**Tabla 9: Parámetros físico-químicos de la calidad del agua subterránea.**

PARÁMETROS	UNIDADES	VALORES
Temperatura	°C	27.62
Oxígeno Disuelto	mg.l <sup>-1</sup>	5.65
	% de Saturación	75.5
Ph	Sin unidades	6.35
Salinidad	ppt	0.07
Conductividad Eléctrica	mS.cm <sup>-1</sup>	0.085
Sólidos Disueltos Totales (TDS)	mg.l <sup>-1</sup>	0.0001
Sólidos Sedimentables Totales (SS)	ml.l <sup>-1</sup>	0
Alcalinidad	mg CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup>	20.5
Nitrógeno Amoniacal Total (NAT)	mg.l <sup>-1</sup>	0.05
Nitrito	mg.l <sup>-1</sup>	0.01

En la preparación de los biorreactores se utilizó melaza (40% de contenido carbono) como fuente de carbono orgánico para alcanzar las relaciones de C:N de cada tratamiento (10:1, 15:1 y 20:1). Según lo establecido por De Schryver *et al.* (2008), se debe considerar la relación C:N del alimento, tomando en cuenta la proteína bruta del alimento, y el porcentaje de carbono en la melaza; sin tomar en cuenta la cantidad de heces excretado por el pez, dado que durante la etapa pre-experimental no se trabajaron con los peces. Además a cada tanque se le agregó alimento balanceado extruido para alevines de *O. niloticus* con 40.02 por ciento de proteína bruta (Jover *et al.* 1998) con una relación C:N de 7.81:1.

La cantidad de melaza a adicionar durante esta etapa se estableció de acuerdo a la relación C:N de cada tanque (tratamiento), mediante el uso de la Ecuación 9 (Modificación basada en De Schryver *et al.* 2008).

$$M = \frac{D \times A \times \%N \times \%P}{\%C}$$

Ecuación 9

Donde:

M: Cantidad de melaza a adicionar.

D: Diferencia que existe en las relaciones C:N del sistema y del alimento.

A: Cantidad de alimento en gramos.

%N: Porcentaje de nitrógeno en la proteína (16%) (Craig y Helfrich, 2002).

%P: Porcentaje de proteína en el alimento (40.02%)

%C: Porcentaje de carbono en la melaza (40%)

De acuerdo a lo mencionado, la formación de los biorreactores de biofloc a diferentes relaciones C:N, requería de una cantidad de melaza diferente por cada kilogramo de alimento adicionado. Esto es especificado en el Tabla 10.

**Tabla 10: Cantidad de melaza (g) a adicionar en cada tratamiento, en función del alimento balanceado (Kg).**

TRATAMIENTO	RELACIÓN C:N	g MELAZA / Kg. ALIMENTO
CONTROL	7.81:1	0.0
CN10	10:1	350.0
CN15	15:1	1,150.0
CN20	20:1	1,950.0

El manejo de los bioreactores durante esta etapa constó en la adición de 250 g de alimento balanceado a cada tanque dos veces por semana (lunes y viernes); mientras que la adición de melaza, se daba una vez por semana (miércoles), en función a la cantidad total del alimento adicionado y la relación C:N del sistema biofloc (SBF).

Por otro lado, durante la formación de los bioreactores de SBF en cada tanque se midieron diariamente los parámetros físico-químicos con un multiparámetro marca YSI 556 MPS (temperatura, oxígeno disuelto, pH, sólidos disueltos). Con respecto a la alcalinidad, se midió semanalmente mediante el uso de kit colorimétrico marca *LABONET*, y para corregir su valor se adicionó como fuente de carbonatos al hidróxido de calcio o “cal muerta” con un poder de neutralización (PN) de 132 por ciento, según lo descrito por Furtado (2011). La cantidad a adicionar se determinó previamente a través de ensayos considerando lo reportado

por Furtado *et al.* (2015), quienes consideran que la cantidad de reserva alcalina a ofrecer depende de la cantidad de alimento ofrecido para poder elevar la alcalinidad total con valores por encima de 100 a 150 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>; por lo cual se decidió adicionar hidróxido de calcio cada tres días, en dosis de la tercera parte de la cantidad suministrada del alimento balanceado a la semana.

La etapa pre-experimental finalizó luego que los compuestos nitrogenados alcanzaron los niveles más bajos y la producción de sólidos sedimentables se encontró por encima de 14 ml.l<sup>-1</sup>, tal como se muestra en la Tabla 11.

**Tabla 11: Parámetros físico-químicos de la calidad de agua en los bioreactores de los sistemas biofloc, al terminar la etapa pre-experimental.**

PARÁMETROS	UNIDADES	VALORES		
		CN10	CN15	CN20
Temperatura	°C	27.25	27.37	27.39
Oxígeno Disuelto	mg.l <sup>-1</sup>	7.17	7.06	7.18
	% de Saturación	85.60	84.99	85.64
Ph	Sin unidades	7.41	7.70	7.92
Conductividad Eléctrica	mS.cm <sup>-1</sup>	0.637	1.114	1.196
Sólidos Disueltos Totales (SDT)	mg.l <sup>-1</sup>	0.0003	0.0005	0.0006
Sólidos Sedimentables (SS)	ml.l <sup>-1</sup>	14.0	17.5	22.0
Alcalinidad	mg CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup>	120	132	150
Nitrógeno Amoniacal Total (NAT)	mg.l <sup>-1</sup>	0.754	0.862	1.341
Nitrito	mg.l <sup>-1</sup>	0.023	0.026	0.067

**b. Obtención, aclimatación y mantenimiento de la tilapia gris**

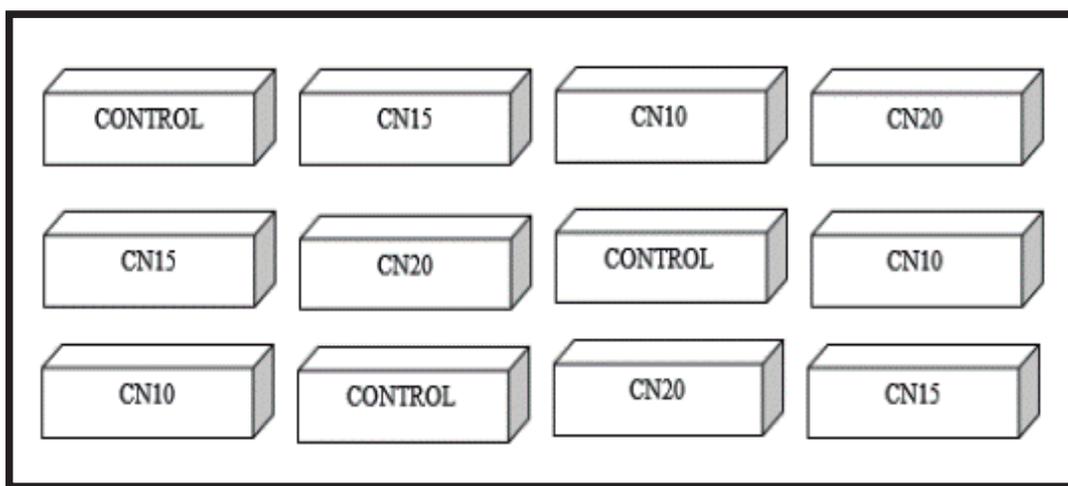
Mil alevines revertidos de tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) con peso promedio de 0.94 g fueron obtenidos de un Centro Acuícola Artesanal en Camaragibe (Pernambuco, Brasil) para ser llevados al Laboratorio de Maricultura Sustentable (LAMARSU) de la UFRPE. A lo largo del transporte se midieron los principales parámetros de calidad del agua de cultivo *in situ* (Anexo 1).

La aclimatación se realizó en tres tanques rectangulares de fibra de vidrio de  $0.4 \times 1.5 \times 0.6 \text{ m}^3$ , cada uno de estos se llenó con 350 litros de agua subterránea. Los alevines fueron sembrados cuando se equilibraron los valores de temperatura y oxígeno disuelto de las bolsas de transporte y de los tanques de aclimatación.

Se contabilizó cien alevines para determinar la biomasa y el peso promedio, que permitiesen establecer la cantidad de alimento a ofrecer con una tasa alimenticia del 12 por ciento, dividido en cuatro raciones (08:00, 11:00, 14:00, 17:00 h). Se realizaron recambios de agua diarios al 20 por ciento del volumen total para la eliminación de alimento no consumido, heces y peces muertos (Avnimelech 2007), durante los siete días de aclimatación. Al finalizar esta fase los alevines alcanzaron pesos promedios superiores a 1.5 g adecuados para la siembra.

**c. Instalación y acondicionamiento de las unidades experimentales**

Se emplearon doce cajas negras de plástico rectangulares de  $0.54 \times 0.34 \times 0.30 \text{ m}^3$ , con capacidad máxima de 57 litros y volumen aprovechable de 40 litros, cada una. Se acondicionó una extensión del sistema de aireación proveniente del *Blower* marca *SWEETWATER* de 1 HP y un sistema de tubería de distribución de  $\frac{3}{4}$ " que se repartió para las doce cajas. En cada una, se instalaron tres manguerillas de silicona de  $\frac{1}{2}$ " de diámetro unidas a piedras difusoras de cerámica; por último, se asignó aleatoriamente los cuatro tratamientos (Figura 3).



**Figura 3: Distribución aleatoria de las unidades experimentales.**

Paralelamente a tres cilindros de fibra de vidrio con capacidad máxima de 180 litros se les colocó dos manguerillas de silicona de ½” unidas a piedras difusoras de cerámica y se transfirieron 150 litros de cada biorreactor. Se midieron los parámetros físico-químicos de cada uno, y posteriormente se transfirieron 40 litros a las cajas según tratamiento SBF; en el caso del tratamiento control se llenó cada caja con 40 litros de agua de origen subterránea.

### **3.2.2. Etapa experimental**

#### **a. Siembra y manejo de los peces**

Se sembró un total de trescientos sesenta alevines revertidos de tilapia gris (*O. niloticus*) a una densidad de 0.75 alevín.l<sup>-1</sup>, según Bhujel (2010) citado en Flores (2013) y Simão *et al.* (2013); se repartieron aleatoriamente entre las doce cajas, con peso promedio de 1.557 ± 0.010 g con una carga promedio inicial de 1.168 ± 0.010 Kg.m<sup>-3</sup>.

Semanalmente se realizaron biometrías, para determinar el tamaño en centímetros (cm) y el peso en gramos (g) de sólo el 50 por ciento de la población de cada caja (elección aleatoria), para evitar situaciones de estrés excesivo, a los individuos. El cálculo de la biomasa estimada semanal, se dio al multiplicar el peso promedio de los peces muestreados por el total de número de peces vivos, utilizándose para ajustar la ración de alimento.

Al final del experimento (58 días) se colectó el total de trescientos cinco juveniles de tilapias gris (*O. niloticus*), luego se procedió al pesado individual de la población total y se eligió al azar el 30 por ciento de los individuos de cada tratamiento para el análisis químico proximal. A cada individuo se le colocó en papel aluminio, respectivamente enumerado y rotulado, luego fueron puestos en una caja *tecknopor* con hielo para generar la muerte súbita de los individuos y mantener los niveles de rigor mortis estables. Una vez muertos fueron secados a 60°C en una estufa de secado marca *TECNAL* modelo TE-394/1 durante 24 h, debidamente enumeradas. Finalmente las muestras se pulverizaron y conservaron herméticamente para la determinación del análisis químico proximal (Anexo 2).

#### **b. Manejo de la alimentación**

Se empleó alimento balanceado comercial extruido con 40.02 por ciento de proteína bruta y 9.06 por ciento de lípidos (Jover *et al.* 1998), a razón de dos tasas alimenticias: (a) Tasa de alimentación del 10 por ciento (desde el día 01 hasta el día 30), con un alimento en polvo y

(b) Tasa de alimentación del 7 por ciento (desde el día 31 hasta el día 56), con un alimento de diámetro de 2 mm. Se alimentó a una frecuencia de tres veces al día: 08:00, 12:00 y 16:00 horas. Diariamente al terminar el día, se procedía a pesar el alimento no consumido obteniéndose el valor real del alimento consumido. Por otro lado, se tomó una muestra de alimento de 50 g conservándose herméticamente para sus posterior análisis químico proximal (Anexo 2).

**c. Manejo del sistema biofloc en las unidades experimentales**

El manejo se realizó considerando la Ecuación 9, adicionando el factor del porcentaje de nitrógeno (N<sub>2</sub>) excretado por la tilapia gris (*O. niloticus*) (82 por ciento, según Green y Boyd 1995), quedando como se indica en el Anexo 3. La cantidad de melaza determinada a agregar en cada tratamiento se muestra en la Tabla 12.

**Tabla 12: Cantidad de melaza (g) a adicionar en función del alimento balanceado (Kg), durante la etapa experimental.**

TRATAMIENTO	RELACIÓN C:N	g MELAZA / Kg. ALIMENTO
CONTROL	7.81:1	0.0
CN10	10:1	287.0
CN15	15:1	943.0
CN20	20:1	1,599.0

La adición de fuentes de carbonato se realizó dos veces por semana (lunes y jueves) a las 15:00 h. Furtado *et al.* (2015), determinó que la cantidad de hidróxido de calcio a ofrecer va desde la quinta parte hasta la mitad de la cantidad del alimento ofrecido, dependiendo de la cantidad de proteína en el alimento, para asegurar la estabilización de la alcalinidad total con valores de 120 a 150 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup> en los tanques con sistemas biofloc. El hidróxido de calcio a suministrar, se diluía en ½ litro de agua y pasaba por un filtro de 500 μ para la eliminación de impurezas, finalmente se adicionaba al sistema biofloc lentamente.

Con el pasar del tiempo, los sólidos sedimentables del sistema biofloc aumentaba, es por ello que se estableció un valor límite máximo de 50 ml.l<sup>-1</sup>, de acuerdo a lo establecido por Luo *et al.* (2012); en base a ello, se procedía a remover los sólidos mediante cálculos matemáticos (Anexo 4), determinándose el volumen (litros) a extraer y mantener valores cercanos al límite establecido.

La extracción del volumen de lodos de cada sistema se realizó cuidadosamente, evitando estrés y/o lastimarlos, para esto se vaciaban en tanques de plástico de capacidad máxima de 20 litros, permitiendo su sedimentación durante 45 minutos. El sedimento se filtró en mallas de 125  $\mu$  para la eliminación de posibles impurezas y/o residuos; luego mediante la ayuda de una mesa agitadora marca *QUIMIS* modelo Q225M, se procedía a filtrar el lodo con ayuda del papel Whatman de 12 cm, obteniendo la mayor cantidad de líquido sobrenadante. Este líquido era repuesto a su respectiva unidad experimental y se calculaba la cantidad de lodo extraído por tratamiento.

Los lodos obtenidos se secaban a 60°C durante 24 h en una estufa de secado marca *TECNAL* modelo TE-394/1; determinando de esta manera la cantidad de sólidos en  $\text{mg.l}^{-1}$  y el porcentaje de humedad presente (Método Gravimétrico). Luego de ello las muestras secas procedían a ser molidas y conservadas herméticamente para su posterior análisis químico proximal (Anexo 2).

#### d. Renovación de agua

En el tratamiento control se renovó el agua para reducir compuestos nitrogenados y/o agentes biológicos (Avnimelech 2007), por lo que se recambió el 20 por ciento del volumen total mediante sifonéo de alimento no consumido y heces.

#### e. Control de parámetros físico-químicos de la calidad del agua

Se realizó el monitoreo diario de los parámetros descritos en la Tabla 13.

**Tabla 13: Parámetros de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), oxígeno disuelto ( $\text{mg.l}^{-1}$ ), pH y sólidos sedimentables ( $\text{mg.l}^{-1}$ ), controlados diariamente.**

PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	EQUIPO/MATERIAL	HORARIO
Temperatura	$^{\circ}\text{C}$	sensor de temperatura	Multiparámetro marca <i>YSI 556 MPS</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 08:00 h</li> <li>• 16:00 h</li> </ul>
Oxígeno disuelto	$\text{mg.l}^{-1}$	sensor de oxígeno disuelto		
pH	-	sensor de pH		
Sólidos sedimentables (SS)	$\text{ml.l}^{-1}$	sedimentación (APHA 1998)	Cono de Imhoff marca <i>SCIENCEWARE</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 09:00 h</li> </ul>

Semanalmente, se colectaba 500 ml de muestras de agua de cada unidad experimental, en botellas plásticas de 650 ml de capacidad debidamente rotulada. Posteriormente se congelaban a -13°C para otros análisis físico-químicos en el Laboratorio de Análisis de Planta, Ración y Agua (LAPLA) (Tabla 14).

**Tabla 14: Parámetros de alcalinidad total (mg.l<sup>-1</sup>), turbidez (UNF), ortofosfato (mg.l<sup>-1</sup>), nitrógeno amoniacal total (mg.l<sup>-1</sup>), nitritos (mg.l<sup>-1</sup>) y nitratos (mg.l<sup>-1</sup>), controlados semanalmente.**

PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	EQUIPO/MATERIAL
Alcalinidad total	mg.l <sup>-1</sup>	Titulación de EDTA (APHA 1998)	-
Turbidez	UNF	Ratio nefelométrico (90°) (USEPA 180.1)	Turbidímetro marca <i>LAMOTTE</i> 2020
Ortofosfato	mg.l <sup>-1</sup>	Ácido ascórbico (HACH 8048)	Espectrofotómetro <i>HACH DR/2500</i> (365 a 880 nm ± 1nm)
Nitrógeno amoniacal total	mg.l <sup>-1</sup>	Nesslerización (HACH 8155)	
Nitritos	mg.l <sup>-1</sup>	Diazotización (HACH 8507)	
Nitratos	mg.l <sup>-1</sup>	Reducción de cadmio (HACH 8039)	

#### f. Determinación de los parámetros productivos

Al finalizar el experimento, la población total de cada unidad experimental fue pesada para determinar el peso promedio final, la tasa de crecimiento absoluto (TC), la tasa de crecimiento específico (TCE), la tasa de conversión alimenticia (TCA), la tasa de eficiencia proteica (TEP), el valor de la proteína productiva (VPP), la tasa de supervivencia y la carga han sido obtenidos basados en las siguientes fórmulas mencionadas por Abdel-Tawwab *et al.* (2010), Guillaume (2001), Hanley (1991), Jones (2002) y Ricker (1979).

- Peso Final (g) = Biomasa Final (g)/Peces sobrevivientes
- Supervivencia (%) = Cantidad de Peces Final x 100% / Cantidad de Peces Inicio
- Carga (Kg.m<sup>-3</sup>) = Biomasa Final (Kg) / Volumen de la unidad experimental (m<sup>3</sup>)
- Tasa de crecimiento absoluta (TC, g.día<sup>-1</sup>) = [Biomasa Final (g) - Biomasa Inicial (g)] / Tiempo de cultivo (días)

- Tasa de crecimiento específico (TCE, %·día<sup>-1</sup>) =  $[\text{Ln}(\text{Peso Final (g)}) - \text{Ln}(\text{Peso Final (g)})] \times 100\% / \text{Tiempo de cultivo (días)}$
- Tasa de conversión alimenticia (TCA) =  $\text{Alimento consumido (g)} / [\text{Biomasa Final (g)} - \text{Biomasa inicial (g)}]$
- Factor de eficiencia proteica (TEP) =  $[\text{Biomasa Final (g)} - \text{Biomasa Inicial (g)}] / \text{Proteína consumida (alimento) (g)}$
- Valor de la proteína productiva (VPP, %) =  $[\text{Proteína Final en los peces (g)} - \text{Proteína Inicial en los peces (g)}] \times 100\% / \text{Proteína consumida (alimento) (g)}$

### **3.3. Diseño y análisis estadístico**

Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico MINITAB 17. Todos los parámetros fueron sometidos a una prueba de normalidad de Anderson Darling ( $p < 0.05$ ), de no cumplirse se realizaría la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Los datos fueron evaluados mediante un diseño completamente al azar (DCA) y de encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos se aplicaría el Test de Tukey ( $p < 0.05$ ) para determinar posibles diferencias significativas entre los tratamientos.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Análisis de los parámetros físico-químicos de la calidad de agua y la relación C:N del sistema biofloc

En la tabla 15 se muestran los parámetros físico-químicos obtenidos durante los 58 días de la parte experimental. La mayoría de los parámetros cumplieron con la prueba de normalidad Anderson-Darling ( $p < 0.05$ ) a excepción del nitrógeno amoniacal total y la turbidez, los cuales fueron evaluados empleando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

#### 4.1.1. Temperatura (°C)

La temperatura del agua de la presente investigación presentó mínimas variaciones que oscilaban alrededor de 0.5 a 1°C, durante el día (Anexo 5), por lo que no tuvo diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ) (Tabla 15).

Esta temperatura fue influenciada por la temperatura ambiente, provocando que el rango de la temperatura del agua estuviese entre 25.8 hasta 28.3°C debido a la influencia de las condiciones climatológicas de la zona (De Schryver *et al.* 2008). En la figura 4 se puede observar que durante los días de lluvia la temperatura ambiente llegaba entre 29 y 32°C, mientras que la temperatura del agua reportaban las más bajas, a diferencia de otros días donde se daban temperaturas ambientales de 35 - 38°C que incrementaban la temperatura del agua; las épocas con más frecuencia e intensidad de lluvias (interdiarias durante más de 24 horas) se dio durante los primeros 25 días de la experimentación, luego de este periodo las condiciones climatológica fueron más estables y se daban lluvias ligeras ocasionalmente (días 34, 43 y 54, respectivamente).

Este parámetro es uno de los más importantes en el cultivo de juveniles de tilapia, dado su relación directa con los procesos fisiológicos. Trabajar con una temperatura promedio de agua de alrededor 27.30 °C es adecuada de acuerdo a lo mencionado por Martínez (2006) y

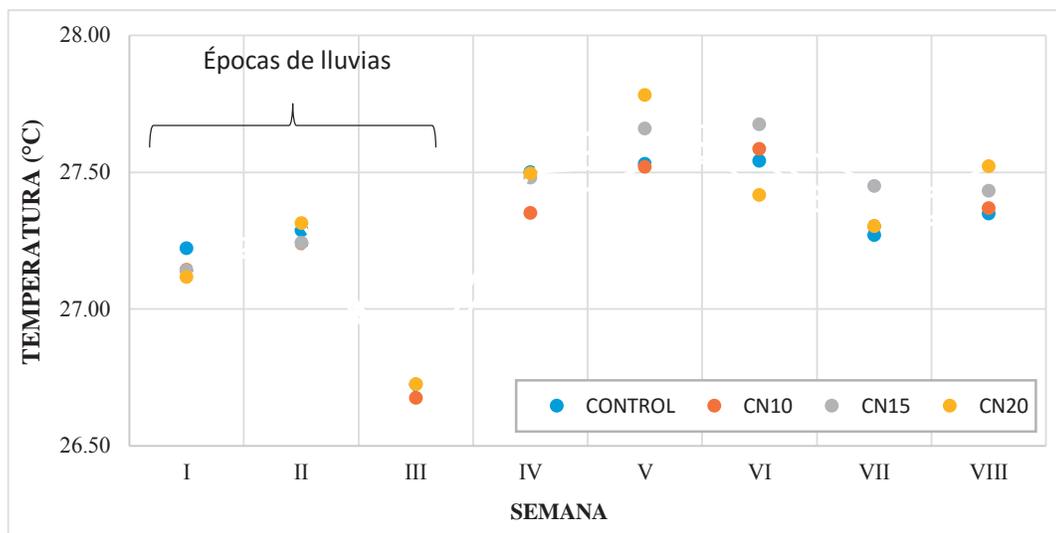
**Tabla 15: Promedio y desviación estándar de los parámetros físico-químicos de la calidad de agua de juveniles de *Oreochromis niloticus* cultivados en los sistemas biofloc a diferentes relaciones C:N, durante 58 días de experimentación.**

PARÁMETRO	TRATAMIENTO			
	Control	CN10	CN15	CN20
Temperatura (°C)	27.27 ± 0.06 <sup>a</sup>	27.24 ± 0.08 <sup>a</sup>	27.35 ± 0.03 <sup>a</sup>	27.33 ± 0.04 <sup>a</sup>
Oxígeno disuelto (mg.l <sup>-1</sup> )	7.42 ± 0.06 <sup>a</sup>	7.41 ± 0.09 <sup>a</sup>	7.25 ± 0.03 <sup>b</sup>	7.15 ± 0.02 <sup>b</sup>
pH	7.17 ± 0.11 <sup>d</sup>	7.53 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.95 ± 0.03 <sup>b</sup>	8.26 ± 0.03 <sup>a</sup>
Alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup> )	31.28 ± 5.26 <sup>c</sup>	49.72 ± 4.60 <sup>c</sup>	94.28 ± 6.74 <sup>b</sup>	141.93 ± 14.01 <sup>a</sup>
Nitrógeno amoniacal total NAT (mg.l <sup>-1</sup> )*	2.22 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.58 ± 0.22 <sup>b</sup>	0.61 ± 0.17 <sup>b</sup>
Nitritos NO <sub>2</sub> (mg.l <sup>-1</sup> )	0.34 ± 0.10 <sup>ab</sup>	0.25 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.43 ± 0.01 <sup>a</sup>
Nitratos NO <sub>3</sub> (mg.l <sup>-1</sup> )	0.91 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.04 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.88 ± 0.01 <sup>b</sup>
Ortofosfato PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg.l <sup>-1</sup> )*	1.82 ± 0.06 <sup>ab</sup>	1.90 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.60 ± 0.17 <sup>bc</sup>	1.47 ± 0.07 <sup>c</sup>
Sólidos suspendidos totales SST (mg.l <sup>-1</sup> )	-	236.1 ± 34.7 <sup>a</sup>	278.8 ± 47.5 <sup>a</sup>	237.7 ± 7.68 <sup>a</sup>
Sólidos sedimentables SS (ml.l <sup>-1</sup> )	-	38.61 ± 0.54 <sup>c</sup>	43.11 ± 0.49 <sup>b</sup>	46.74 ± 1.55 <sup>a</sup>
Turbidez (UNF)*	29.79 ± 6.58 <sup>c</sup>	105.50 ± 18.20 <sup>b</sup>	123.58 ± 8.53 <sup>ab</sup>	151.70 ± 18.80 <sup>a</sup>

Los tratamientos son: Control (20%.día<sup>-1</sup> de recambio de agua) y sistemas biofloc con tres relaciones de C:N (10:1, 15:1 y 20:1). Los datos corresponden al promedio (8 semanas) ± desviación estándar. Los resultados fueron analizados por ANOVA de una sola vía y comparados por la prueba de Tuckey (p<0.05).

\* Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Kubitza (1999), puesto que según lo mencionado por Luchini (2006), la temperatura de agua promedio debe ir en el rango de 25 a 32 °C para el caso de peces cultivados en zonas tropicales.



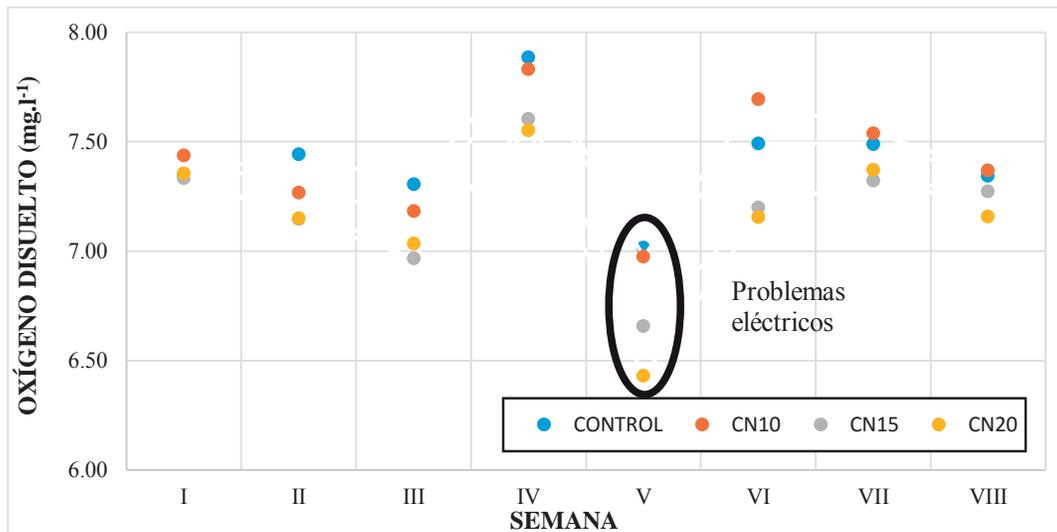
**Figura 4: Promedios semanales de temperatura del agua (°C) de cada tratamiento, durante 58 días de experimentación.**

La temperatura del agua para el cultivo de tilapia en sistema biofloc (SBF) ha abarcado entre 26 a 30 °C con excelentes resultados en el crecimiento (Azim y Little 2008, Azim *et al.* 2008); asimismo en el caso del uso de invernaderos, se logró trabajar con temperaturas que iban desde 14 hasta 20 °C durante meses de invierno, con óptimos resultados productivos debido a la influencia de la temperatura en la minimización de las concentraciones de nitrógeno tóxico disuelto (Crab *et al.* 2009).

De igual manera, la temperatura juega un papel fundamental en los SBF, puesto que determina el metabolismo microbiano y la producción de sólidos suspendidos, por efecto de la producción de polisacáridos celulares, por lo que se recomienda un rango que va de 20 a 27°C, para obtener SST alrededor 200 mg.l<sup>-1</sup> (De Schryver *et al.* 2008). Trabajar con las temperaturas que se presentan en la Figura 4 ha permitido ofrecer buenas condiciones para el desarrollo de la especie, además de ser favorable en la producción microbiana del SBF. Sin embargo, las variaciones que se dieron por efectos climatológicos deben ser consideradas para posteriores análisis, debido a que este parámetro repercute directamente en los compuestos nitrogenados tóxicos del pez al igual que en el oxígeno disuelto en el agua y el desarrollo de las comunidades microbianas (Boyd 1998).

#### 4.1.2. Oxígeno disuelto ( $\text{mg.l}^{-1}$ )

Los resultados del oxígeno disuelto del agua durante la fase experimental se muestran en la tabla 15 y en la figura 5. Estos valores si expresan diferencias significativas entre los tratamientos control y CN10, frente a CN15 y CN20 ( $p < 0.05$ ). Estos últimos presentaron las concentraciones de oxígeno disuelto más bajas ( $7.25$  y  $7.15$   $\text{mg.l}^{-1}$ , respectivamente) a comparación con el control ( $7.41$   $\text{mg.l}^{-1}$ ) y el tratamiento CN10 ( $7.42$   $\text{mg.l}^{-1}$ ).



**Figura 5: Promedios semanales de oxígeno disuelto del agua ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) de cada tratamiento, durante 58 días de experimentación.**

El oxígeno disuelto de los tratamientos presentó amplias oscilaciones debido a problemas eléctricos durante la experimentación, así como también a la cantidad de melaza adicionada en los tratamientos con SBF, oscilando entre  $5.45$  y  $8.42$   $\text{mg.l}^{-1}$ . El anexo 5 y 6, muestran los valores de las primeras cuatro semanas donde se presentan fuertes lluvias y la temperatura ambiente resultó muy variante y afectó la solubilidad del oxígeno disuelto en más de  $1$   $\text{mg.l}^{-1}$ , tal como lo refiere Boyd (1998); asimismo durante este periodo (quinta semana experimental) hubo fallas con el sistema eléctrico de la universidad, producto de las descargas eléctricas producidas por los relámpagos. Por otro lado, cabe resaltar que en el caso de la tilapia, Martínez (2006) y FONDEPES (2004) mencionan que esta se desenvuelve con normalidad en cultivos que van de  $4$  a  $9$   $\text{mg.l}^{-1}$  de oxígeno disuelto, reiterando que los niveles manejados en esta experimentación han sido los adecuados para el cultivo de la especie.

Por otro lado las concentraciones de oxígeno disuelto resultaron ser variables debido a las características propias de la dinámica y manejo del sistema biofloc, que implica la adición de melaza y los procesos de respiración de la comunidad microbiana en los procesos de nitrificación y la formación de proteína microbiana, respectivamente (Crab *et al.* 2007, Hargreaves 2006).

La cantidad de melaza es determinante en el consumo de oxígeno, dado que las bacterias heterótrofas lo emplean (aproximadamente 10 veces menos que las bacterias autótrofas) para dar la formación del *floc*. Se considera que la adición de melaza tiene como consecuencia inmediata el aumento del uso de oxígeno disuelto, teniendo como resultados la disminución de las concentraciones de este parámetro (Azim y Little 2008).

De igual modo la adición de la fuente de carbono debe realizarse lentamente, para que la disminución de las concentraciones de oxígeno disuelto no sean bruscas y ocasionen serios problemas en la fisiología del pez (De Schryver *et al.* 2008). Esto permite explicar que el tratamiento CN10 por el hecho de recibir menor cantidad de melaza (287 g/Kg alimento) permitió tener una concentración de oxígeno más alta en comparación que los otros tratamientos biofloc (CN15: 943 g/Kg alimento, CN20: 1,599 g/Kg alimento).

El tratamiento control presentó niveles de oxígeno disuelto similar al tratamiento CN10, debido a los recambio de agua diario (20 por ciento) que minimizan el crecimiento de comunidades autótrofas, quienes emplean este parámetro en el proceso de nitrificación para la formación de compuestos nitrogenados tóxicos (Crab *et al.* 2007, De Schryver *et al.* 2008, De Schryver y Verstraete 2009).

#### **4.1.3. pH**

Los valores de pH se presentan en la tabla 15, donde se aprecia un rango que va desde 7.17 hasta 8.26 con valores mínimos de 6.59 y máximos de 8.99, que según lo reportado por Flórez (2013) y Kubitzka (1998), se encuentran dentro del rango de tolerancia para la tilapia que abarca de 6.5 a 9. Los valores de pH del presente trabajo presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre todos los tratamientos, debido al hecho que cada tratamiento con sistema biofloc presentó una dinámica de diversificación de microorganismo distinta. A medida que se aumentó la relación C:N del sistemas biofloc se incrementó el pH promedio

del sistema (CN10: 7.53, CN15: 7.95, CN20: 8.26), a diferencia del control que resultó ser menor (7.17).

El pH guarda una estrecha relación con la temperatura. De acuerdo a lo investigado por Mejía (2014), a temperaturas por encima de 27°C se acelera el metabolismo de microorganismos que contribuyen a la formación del *floc* (Hargreaves 2004, Pérez *et al.* 2013), aumenta el consumo de reservas alcalinas ocasionando amplias oscilaciones de pH. Según Schryver *et al.* (2008) en los SBF, el difícil control de este parámetro se atribuye a los procesos bacterianos y biológicos que afectan la fisiología del pez u ocasionan altas tasas de mortalidad (Ebeling *et al.* 2006, Crab *et al.* 2010); por lo que se procura mantener el pH en equilibrio (pH>6.5) a través de la adición de fuentes de reservas alcalinas, como es el bicarbonato de sodio (Shnel *et al.* 2002) o el hidróxido de calcio (Furtado 2011, Whangchai *et al.* 2004).

El alto valor de pH de los sistemas biofloc aseguró la presencia y crecimiento de bacterias autótrofas y heterótrofas, tal como lo explican Burford *et al.* (2003), puesto que si se hubiese tenido valores de pH por debajo de 5 se hubiese limitado la producción de estas bacterias. Asimismo, valores por encima de 7.5 indica que el desarrollo de las bacterias *Nitrosomonas* se da con normalidad, minimizando las situaciones de estrés ocasionado por el amoniaco (Hargrove *et al.* 1996). Según lo indicado por Azim *et al.* (2008), trabajar con un alimento de alto contenido proteico (40 por ciento) aumenta el pH del sistema, concluyendo en su investigación que con el 22 por ciento de contenido proteico obtiene valores de pH de 7.05 y con 35 por ciento de contenido proteico obtiene valores de pH de 7.35).

#### **4.1.4. Alcalinidad (mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>)**

En la tabla 15, se observa que las concentraciones de alcalinidad encontrados presentaron diferencias significativas entre sí, resultando menores los correspondiente al tratamiento control (31.28 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>) y el tratamiento CN10 (49.72 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>), sin diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, sí se observan diferencias significativas de éstos respecto al CN15 y CN20, siendo este último el que presentó los valores más altos (141.93 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>). Aun así, los tratamientos SBF presentaron los mayores valores en comparación con el tratamiento control, como también se dio con los valores de pH; corroborando lo mencionado por Dos Santos *et al.* (2009), quienes mencionan que ambos

parámetros guardan una estrecha relación debido a los procesos fotosintéticos, respiratorios y bacterianos.

A pesar de la variación de este parámetro, los valores de este experimento se encuentran dentro del rango normal que va desde 50 a 150 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup> (Martínez 2006), asegurando que la alcalinidad no sería un inconveniente en el cultivo de tilapia, mientras que para el tratamiento control por encontrarse por debajo de este rango, probablemente ocasionó situaciones de estrés (Ekasari *et al.* 2015), siendo una de las causas de los altos porcentajes de mortalidad reportados en este tratamiento. Asimismo el presentar valores por debajo de 80 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>, tiene como consecuencia amplias variaciones de pH (Dos Santos *et al.* 2009, FONDEPES 2004), como presentan los tratamientos CN10 y control.

La inestabilidad de los sistemas biofloc, tienen como consecuencia la pérdida de la capacidad buffer de la alcalinidad (40 a 100 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>, aproximadamente) por efecto de los procesos biológicos (Hargreaves 2013, Mikkelsen *et al.* 1996); en principio, el mayor consumo se da por parte del proceso de nitrificación (7.05 g de CaCO<sub>3</sub> por gramo de NAT), seguido por el consumo de las bacterias heterótrofas cuando asimilan la proteína (3.57 g de CaCO<sub>3</sub> por gramo de NAT) (Ebeling *et al.* 2006, Furtado 2011). En el tratamiento CN10 se alcanzaba consumos semanales alrededor de 50 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>, mientras que en el caso de los otros tratamientos biofloc el consumo llegó a ser de 15 mg CaCO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup>; infiriendo que bajo las condiciones dadas en el tratamiento CN10, el mayor consumo de carbonatos probablemente se deba en su mayoría la presencia de bacterias autótrofas, seguidas de las heterótrofas.

#### **4.1.5. Sólidos particulados totales**

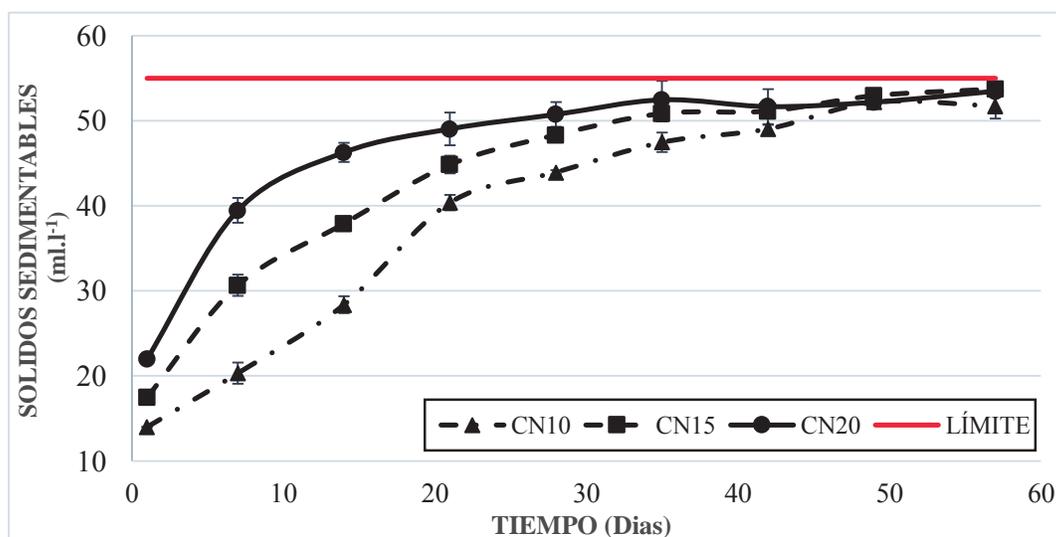
Los resultados de este tipo de sólidos que incluyen a los sólidos sedimentables totales (SS) y a los sólidos suspendidos totales (SST), se muestran en la tabla 15.

##### **a. Sólidos sedimentables (SS, ml.l<sup>-1</sup>)**

Los valores de los sólidos sedimentables presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), como se puede observar en la tabla 15. La producción de sólidos sedimentables aumentó a medida que aumentó la relación C:N del sistema biofloc, debido a

la cantidad de melaza que se iba adicionando para la estimulación del crecimiento de las comunidades microbianas. Asimismo, las diferencias significativas encontradas en la experimentación, se dan por la gran influencia de la relación C:N de los tratamientos con sistemas biofloc (CN10: 38.61 ml.l<sup>-1</sup>; CN15: 43.11 ml.l<sup>-1</sup>; CN20: 46.74 ml.l<sup>-1</sup>), por el alto contenido proteico del alimento (40 por ciento) y la alta tasa de excreción de nitrógeno de los alevines de tilapia (82 por ciento, según Green y Boyd 1995).

En la Figura 6 se muestra la producción de los sólidos sedimentables durante la fase experimental. Se observa que las concentraciones al inicio de la experimentación se encontraron alrededor de 14 ml.l<sup>-1</sup>. A lo largo del experimento se mantuvieron entre 45 y 55 ml.l<sup>-1</sup>, dentro del rango trabajado por Azim *et al.* (2008), Azim y Little (2008) y Luo *et al.* (2014), quienes lograban mantener los niveles adecuado de oxígeno disuelto (6 a 7 mg.l<sup>-1</sup>) y estabilizar a los compuestos nitrogenados tóxicos.



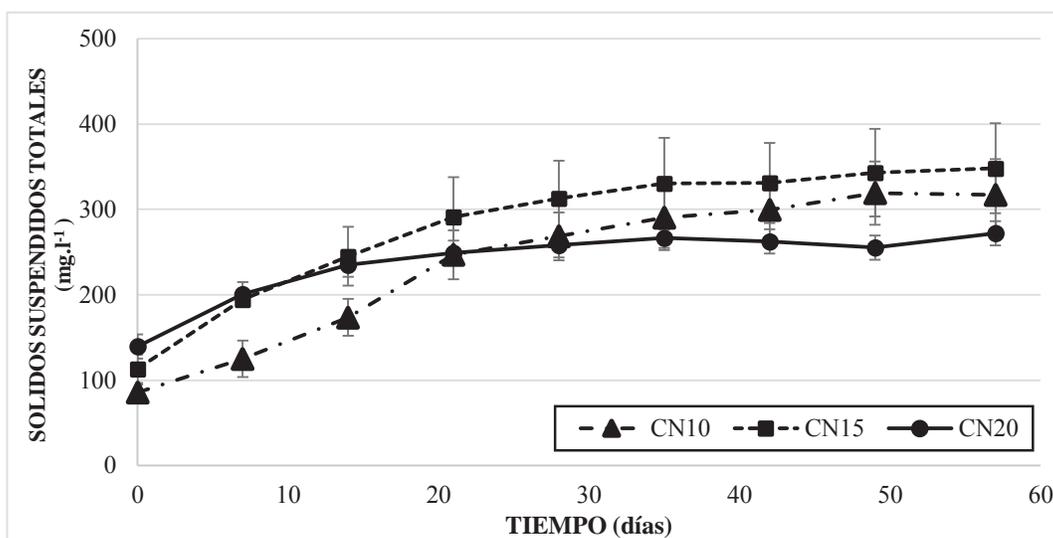
**Figura 6: Producción de sólidos sedimentables (ml.l<sup>-1</sup>) en el cultivo de *Oreochromis niloticus*, durante 58 días de experimentación.**

Hargreaves (2013), asegura que entre 25 y 50 ml.l<sup>-1</sup> el sistema ofrece condiciones favorables para el cultivo de tilapia, por lo que se estableció un límite máximo de 55 ml.l<sup>-1</sup>; puesto que a medida que transcurre el tiempo y se adiciona una fuente de carbono orgánico, aumenta la producción de SS (Luo *et al.* 2012). La presencia de sólidos sedimentables en estos sistemas tal como lo mencionan Luo *et al.* (2012), principalmente se da por las bacterias heterótrofas seguidas de bacterias autótrofas. Además según lo mencionado por Monroy *et al.* (2013), otros factores determinantes son la fuente de carbono orgánico, contenido proteico de la

dieta, comunidades microbianas, y la tasa de excreción de nitrógeno de los peces cultivados.

#### b. Sólidos suspendidos totales (SST, $\text{mg.l}^{-1}$ )

Los valores para los SST durante la fase experimental se muestran en la tabla 15 y en la figura 7. Puede verse que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos SBF, a pesar que numéricamente se observa una mayor producción en el tratamiento CN15 ( $278.8 \text{ mg.l}^{-1}$ ).



**Figura 7: Producción de sólidos suspendidos totales ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) en el cultivo de *Oreochromis niloticus*, durante 58 días de experimentación.**

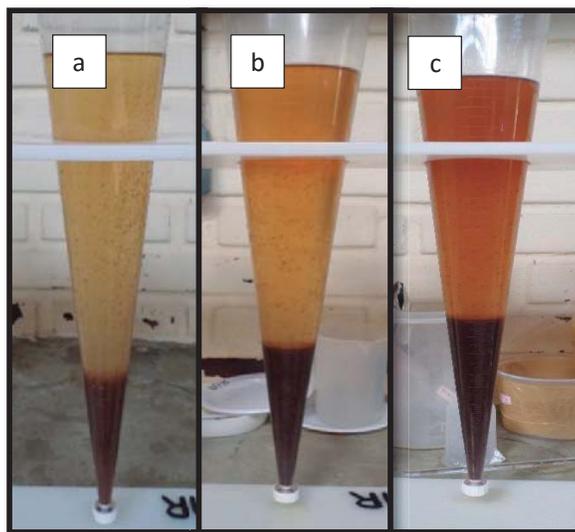
Los sistemas biofloc pueden presentar concentraciones de hasta  $500 \text{ mg.l}^{-1}$ , resultando lo suficientemente adecuado para el funcionamiento del sistema y control del amoníaco, evitando de este modo situaciones de estrés en el cultivo (Avnimelech 2006, Avnimelech y Kochba 2009, Hargreaves 2013). De acuerdo a lo mencionado, trabajar con valores por debajo de este límite ha permitido tener un control de los sólidos gracias a la remoción de estos, que a su vez ha permitido disminuir la concentración generada por la formación de la proteína microbiana (Crab *et al.* 2009, Ebeling *et al.* 2006), al igual que minimizar las concentraciones de compuestos tóxicos (De Schryver *et al.* 2008).

#### 4.1.6. Turbidez (unidades nefelométricas - UNF)

Los valores de turbidez se muestran en la tabla 15. Los valores encontrados en la investigación presentaron diferencias significativas entre los SBF y el control, este último

fue quién presentó los menos niveles. Este parámetro se incrementa por la presencia de materia orgánica y fuente de carbono orgánico (Hargreaves 2006) y por efecto de la cantidad de sólidos suspendidos totales (Mejía 2014).

El tratamiento control presentó el valor de 29.79 FNU, lo cual es consecuencia de las renovaciones diarias de agua que no permitía el acúmulo de la materia orgánica, así como también la presencia de organismos autótrofos (Avnimelech 2007). En cambio, la coloración del sistema biofloc, está en función de la fuente de carbono orgánico, como también de la cantidad adicionada (Emerenciano *et al.* 2012b). En la figura 8 se observa que a medida que la cantidad de carbono orgánico aumenta, la turbidez y por ende la coloración del agua, también se incrementan a consecuencia de las mayores concentraciones de SST (CN10: 105.50 UNF, CN15: 123.58 UNF, CN20: 151.70 UNF).



**Figura 8: Coloración del agua en los tratamientos CN10 (a), CN15 (b) y CN20 (c), en el día 57 de la experimentación.**

#### **4.1.7. Compuestos nitrogenados disueltos**

Los valores de estos compuestos durante la fase experimental se muestran en la tabla 15. Dentro de los compuestos nitrogenados disueltos en los cultivos acuícolas, se encuentran el nitrógeno amoniacal total ( $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ ), nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) y nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ). Si bien la tilapia es una de las pocas especies que logra tolerar amplias variaciones de estas variables, lo adecuado en su cultivo debe encontrarse en valores de NAT menor a  $0.1 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $\text{NO}_3^-$  entre  $1.5$  a  $2 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $\text{NO}_2^-$  menor a  $0.1 \text{ mg.l}^{-1}$  (Martínez 2006, Nirchio y Pérez 2002); como se ve

los niveles de NAT y  $\text{NO}_2^-$ , resultaron ser los más inestables a lo largo del periodo experimental a comparación de los  $\text{NO}_3^-$ .

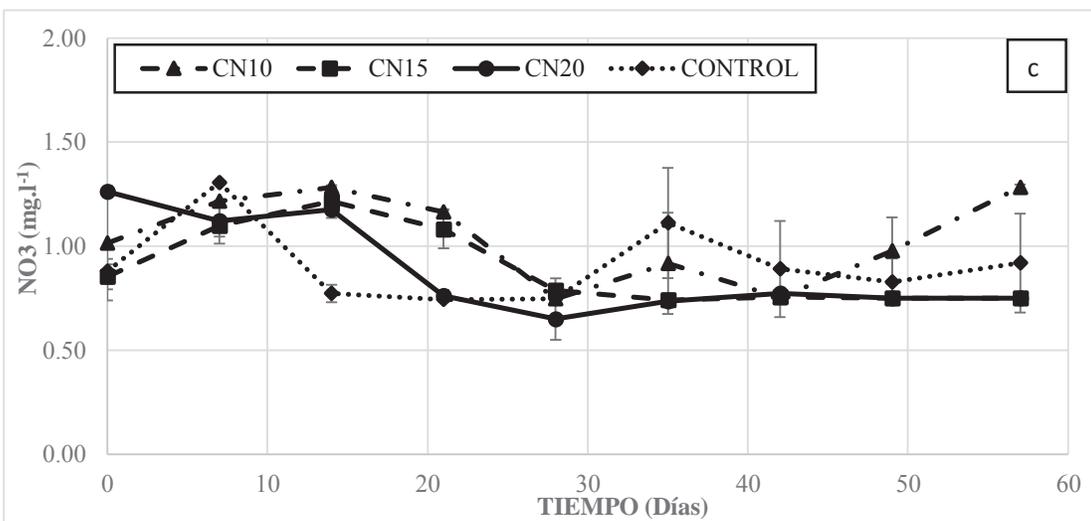
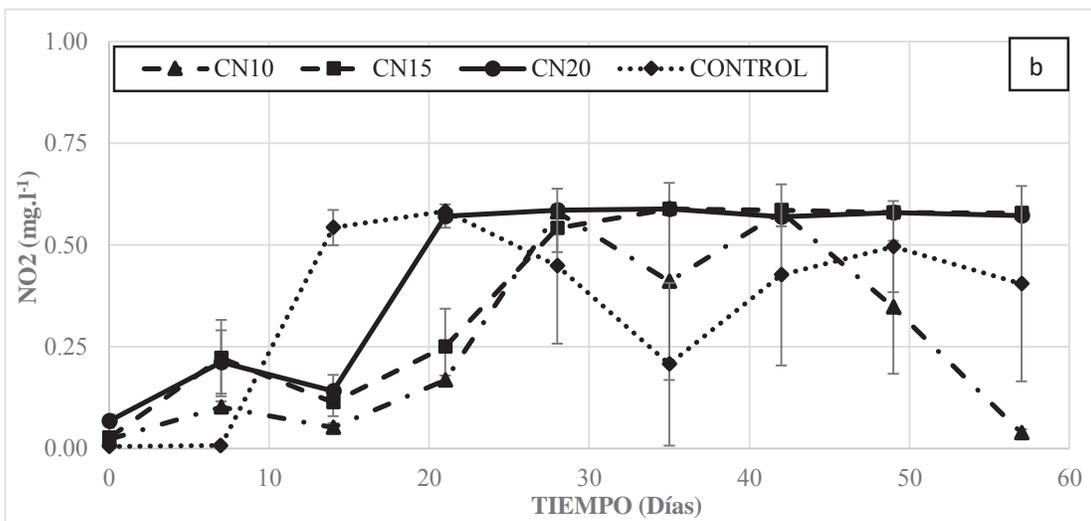
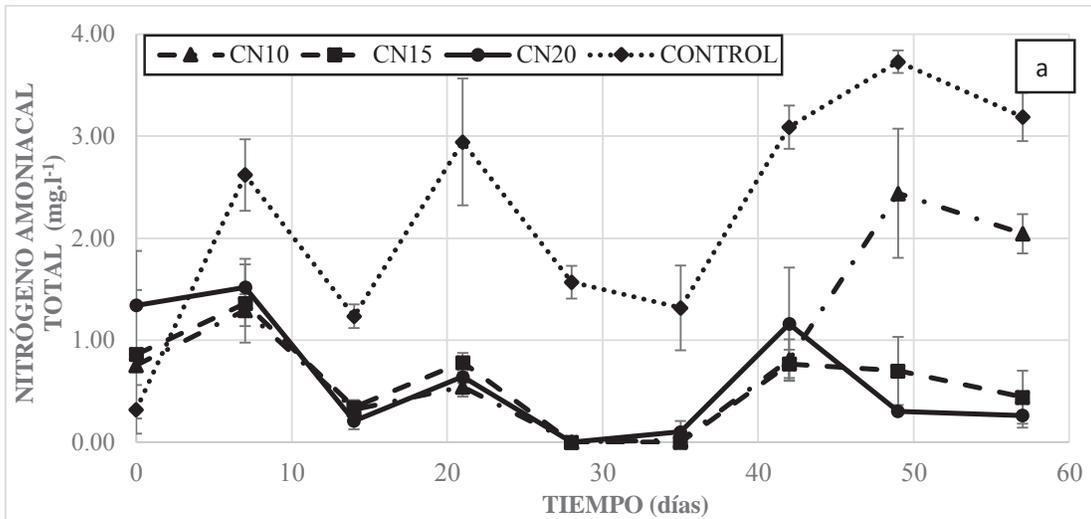
**a. Nitrógeno amoniacal total (NAT,  $\text{mg.l}^{-1}$ )**

Los valores de NAT encontrados presentaron diferencias significativas entre el control y los sistemas biofloc ( $p < 0.05$ ) (Tabla 15); así también se observa en la figura 9a, la disminución gradual de estos valores a medida que se aumentaba la relación C:N del sistema, lo que explica su dependencia directa con la adición de sustrato orgánico.

El nitrógeno amoniacal total, está conformado por el amonio no-ionizado o también llamado amoniaco ( $\text{NH}_3$ ), tóxico para peces, y en amonio ionizado o también llamado amonio " $\text{NH}_4^+$ " que no genera ninguna toxicidad (El Sayed 2006). Presentar valores que van de 0.2 a 0.75  $\text{mg.l}^{-1}$  (Anexo 7), no genera problemas de intoxicación en las tilapias, de acuerdo a lo investigado por FONDEPES (2004) y El Shafai *et al.* (2004) citados en Dos Santos *et al.* (2009), quienes reportan rangos favorables entre 0.4 y 2.0  $\text{mg.l}^{-1}$  de  $\text{NH}_3$ .

El tratamiento control presentó altas concentraciones de NAT (2.22  $\text{mg.l}^{-1}$ ) debido a la excreción de los peces y alimento no consumido (Avnimelech 1999, Hari *et al.* 2004); este tipo de nitrógeno es aprovechado por las bacterias nitrificantes de los SBF las cuales se encargan de la formación de nitritos y nitratos (Timmons *et al.* 2002, Hargreaves 2013). Presentar valores entre 0.4 y 3.8  $\text{mg.l}^{-1}$  de NAT, repercute en la salud del pez, siendo otra de las causas que ocasionó el mayor porcentaje de mortalidad en el cultivo (39 por ciento). Las concentraciones de NAT en los sistemas biofloc resultaron menores al tratamiento control, además de no presentar diferencias significativas entre los tratamientos con sistema biofloc ( $p > 0.05$ ), presentaron una tendencia a disminuir luego de la primera de semana de experimentación (Figura 9a), debido a la adición de carbono orgánico como sustrato de las bacterias heterótrofas, encargadas de asimilar el NAT para formar la proteína microbiana (Burford *et al.* 2004, Ebeling *et al.* 2006, Hargreaves 2013).

En un cultivo de *Labeo victorianus* realizado por Magondu *et al.* (2015), determinaron que la asimilación del NAT aumentó a medida que varió la relación C:N de 10 para 20 por efecto del aumento de las densidades de bacterias heterótrofas que están presentes en los sistema biofloc. Esta investigación permite explicar los resultados encontrados y la asimilación del



**Figura 9: Dinámica del: a) NAT (mg.l<sup>-1</sup>), b) NO<sub>2</sub> (mg.l<sup>-1</sup>) y c) NO<sub>3</sub> (mg.l<sup>-1</sup>) en el cultivo de *Oreochromis niloticus*, durante los 58 días de experimentación.**

NAT por efecto de las bacterias heterótrofas (CN10: 0.91 mg.l<sup>-1</sup>, CN15: 0.58 mg.l<sup>-1</sup>, CN20: 0.61 mg.l<sup>-1</sup>) (Tabla 15).

**b. Nitrito y nitrato (NO<sub>2</sub> y NO<sub>3</sub>, mg.l<sup>-1</sup>)**

Estos compuestos nitrogenados obtenidos del amoníaco a través de bacterias que crecen en la materia orgánica suspendida (El Sayed 2006, Kubitza 1998), presentaron particularidades independientes como se puede ver en la Figura 9 (b-c) y la tabla 15. Las concentraciones de nitritos presentaron diferencias significativas entre los tratamientos por efecto de la densidad de carga de la tilapia, como lo explica Luo *et al.* (2014), altas cargas por arriba de 8 Kg.m<sup>-3</sup> conlleva a altas producciones de NAT y NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, generando inestabilidad en los sistemas biofloc. Asimismo, altas tasas de nitrificación ocasionan inestables concentraciones de este parámetro (Azim *et al.* 2008, Azim y Little 2008), como también alimentos con altos contenidos proteicos (Crab *et al.* 2009).

Los nitritos, al igual que el amoníaco, resultan ser uno de los componentes altamente tóxicos para la tilapia, por lo que obtener valores entre 0.25 a 0.43 mg.l<sup>-1</sup> se encuentran dentro de las concentraciones que van de 0.1 mg.l<sup>-1</sup> (Luchini 2006) hasta 2.0 mg.l<sup>-1</sup> en el cultivo con sistemas biofloc (Hari *et al.* 2006, Shnel *et al.* 2002). Las concentraciones de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en los tratamientos con sistema biofloc crecieron a medida que aumentaba la relación C:N. Mayores concentraciones de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> fueron observadas en el tratamiento CN20 (0.43 mg.l<sup>-1</sup>), debido al mayor aporte de substrato orgánico (alta relación C:N).

Durante la quinta semana del experimento (Figura 5) se reportaron bajas concentraciones de oxígeno disuelto que permitió el desarrollo de mayores concentraciones de nitritos (Kubitza 1998). Los tratamientos CN15 y CN20, por el hecho de mantener altas concentraciones de nitritos, afectaron las funciones fisiológicas de los peces, retardando su crecimiento o aumentando las tasas de mortalidad (Sudharsan *et al.* 2000 citados en El Sayed 2006). Las concentraciones de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en los tratamientos durante la experimentación fueron más estables (Figura 9c). El nitrato fue el principal componente del nitrógeno inorgánico disuelto presente en los tratamientos con SBF, debido a la presencia de bacterias nitrificantes (Ebeling *et al.* 2006). Resultados parecidos donde se dan altos valores de nitrato, en comparación con los nitritos y NAT, fueron observados por Azim y Little (2008), y Pérez *et al.* (2016) en el cultivo de *Oreochromis niloticus* en sistemas biofloc.

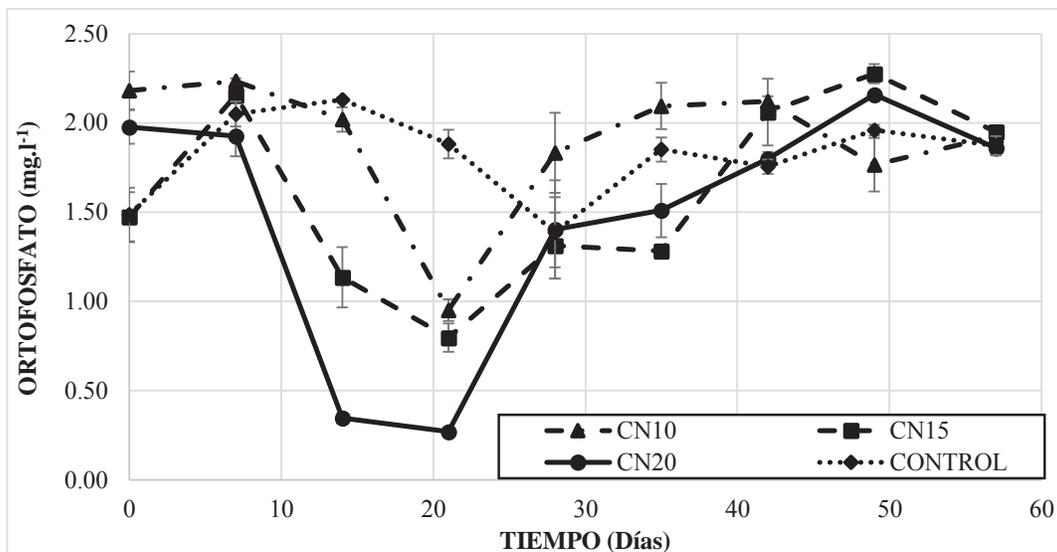
El nitrato, si bien es cierto no tiene un efecto tóxico al presentarse en elevadas concentraciones, pero afecta el sistema inmune y puede inducir indirectamente a la muerte de los peces (Plumb 1997 citado en El Sayed 2006). Los cultivos convencionales de tilapia, se desarrollan de manera óptima hasta en concentraciones de 10 mg.l<sup>-1</sup> (Luchini 2006), por lo que trabajar en rangos que van de 0.8 a 1.1 mg.l<sup>-1</sup> resulta ser confiable para el cultivo. Los nitritos tienden a disminuir a través de los recambios de agua. Es por ello que los sistemas biofloc tienden a acumular nitratos hasta concentraciones de 40 – 150 mg.l<sup>-1</sup> (Hari *et al.* 2006, Shnel *et al.* 2002).

El tratamiento CN10 presentó una mayor cantidad de nitratos (1.04 mg.l<sup>-1</sup>) a diferencia de los otros tratamientos bajo sistemas biofloc. Considerando que se trabajó bajo condiciones adecuadas de oxígeno disuelto (> a 7 mg.l<sup>-1</sup>), podría atribuirse a una mayor densidad de bacterias oxidativas de nitritos, las que se encargan del proceso de nitrificación en un sistema mixotrófico (Azim y Little 2008).

#### **4.1.8. Fosfato – orfosfato (mg.l<sup>-1</sup>)**

Los valores de ortofosfatos se observan en la tabla 15 y en la figura 10. Se presentaron concentraciones de ortofosfato en el agua que van de 0.037 y 2.327 mg.l<sup>-1</sup>, por lo que se refiere que esta fuente de fosfatos es posiblemente utilizada en el crecimiento del biofloc y no empleada por el pez (Luo *et al.* 2014). La variabilidad de este parámetro para todos los tratamientos con SBF depende de la estabilidad del sistema. Hasta la tercera semana presentan una tendencia a la disminución posiblemente por el eficiente aprovechamiento de las bacterias heterótrofas. Luego de la cuarta semana aumentan las concentraciones de ortofosfatos por efecto del aumento de la cantidad de alimento ofrecido. En el caso particular del tratamiento CN10, el presentar mayores niveles de ortofosfato describe la menor densidad de bacterias heterótrofas en este sistema. Esta característica aumenta a medida que la relación C:N aumenta (CN10: 1.90 mg.l<sup>-1</sup>, CN15: 1.60 mg.l<sup>-1</sup>, CN20: 1.47 mg.l<sup>-1</sup>).

En el cultivo de tilapias en sistemas biofloc, Luo *et al.* (2014) demuestran que los niveles de fósforo son menores, comparados con los sistemas de recirculación. Esto se debe que el fósforo añadido por medio del alimento se acumula en el agua. Caso contrario sucede en el sistema biofloc, donde Mejía (2014) encontró concentraciones entre 0.09 hasta 10.9 mg.l<sup>-1</sup>, mientras que en otras investigaciones han alcanzado concentraciones de hasta 70 mg.l<sup>-1</sup>



**Figura 10: Dinámica del ortofosfato  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) en el cultivo de *Oreochromis niloticus*, durante 58 días de experimentación.**

(Shnel *et al.* 2002). El ortofosfato es eficientemente asimilado a través de estos sistemas, sin embargo la dinámica de la tecnología biofloc conlleva a amplias fluctuaciones que se pueden dar durante los días de experimentación, originando altas acumulaciones de este parámetro debido a que no existe proceso que permita su eliminación del agua (Ríos 2009 citado en Mejía 2014).

#### **4.2. Parámetros productivos de *Oreochromis niloticus* y la relación C:N del sistema biofloc.**

En la tabla 16 se detallan los valores de los parámetros productivos obtenidos en la presente investigación para juveniles de *Oreochromis niloticus*, considerando que en el cultivo de esta especie existe dependencia entre los parámetros productivos con las condiciones del entorno del cultivo y su adaptabilidad (Martínez 2006).

La mayoría de los parámetros cumplieron con la prueba de normalidad Anderson-Darling ( $p < 0.05$ ), a excepción de la tasa de conversión alimenticia y tasa de eficiencia proteica, el cuál fue evaluado empleando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para el caso de la supervivencia, tasa de crecimiento específico y valor de la proteína productiva, previamente se realizó la transformación del *Arco coseno* por tratarse de valores en porcentaje.

**Tabla 16: Promedio y desviación estándar de los parámetros productivos de juveniles de *Oreochromis niloticus* de la presente investigación, durante 58 días de experimentación.**

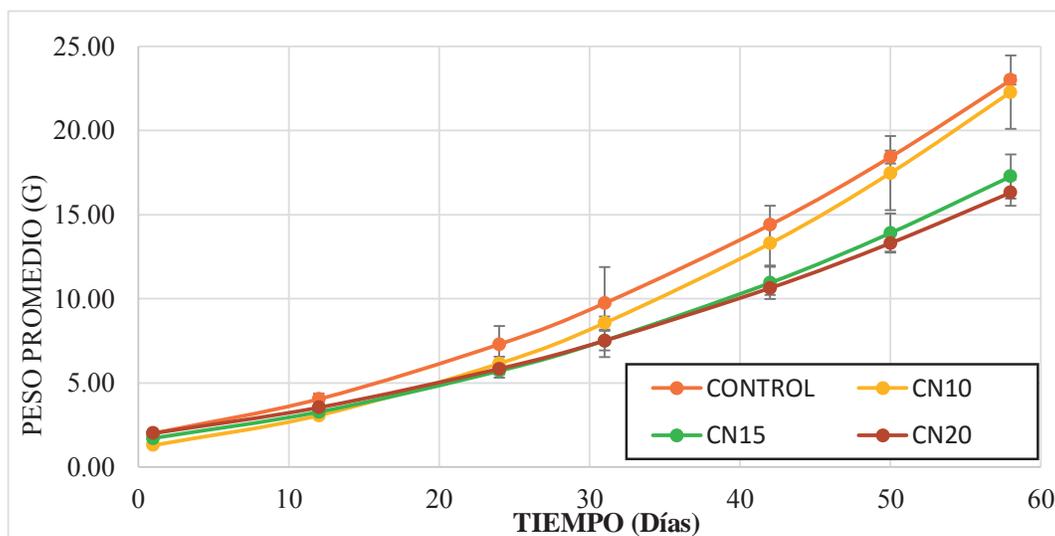
PARÁMETROS	TRATAMIENTOS			
	Control	CN10	CN15	CN20
Peso inicial (g)	1.556 ± 0.01 a	1.557 ± 0.02 a	1.556 ± 0.02 a	1.556 ± 0.01 a
Tasas de crecimiento absoluto TC (g.día <sup>-1</sup> )	0.35 ± 0.01 a	0.34 ± 0.03 a	0.26 ± 0.02 b	0.25 ± 0.01 b
Tasa de crecimiento específico TCE (%.día <sup>-1</sup> )	4.60 ± 0.01 a	4.53 ± 0.18 a	4.12 ± 0.14 b	4.07 ± 0.09 b
Tasa de eficiencia proteica TEP*	1.34 ± 0.19 b	1.82 ± 0.07 a	1.58 ± 0.08 ab	1.37 ± 0.08 b
Valor de la proteína productiva VPP (%)	26.73 ± 4.11 c	38.98 ± 1.59 a	33.52 ± 0.96 ab	28.47 ± 1.36 bc
Peso final (g)	22.35 ± 0.26 a	21.70 ± 2.18 a	17.03 ± 1.31 b	16.34 ± 1.10 b
Biomasa final (g)	409.93 ± 0.06 c	620.09 ± 0.21 a	493.49 ± 0.50 b	414.17 ± 0.16 c
Carga Final (Kg.m <sup>-3</sup> )	10.24 ± 0.93 c	15.50 ± 0.81 a	12.33 ± 0.78 b	10.35 ± 1.32 c
Tasa de conversión alimenticia TCA*	1.90 ± 0.29 a	1.37 ± 0.05 b	1.58 ± 0.08 ab	1.83 ± 0.10 ab
Supervivencia (%)	61.11 ± 5.09 ab	95.56 ± 4.09 a	96.67 ± 3.33 a	85.00 ± 11.67 b

Los tratamientos son: Control (20%.día<sup>-1</sup> de recambio de agua) y sistemas biofloc con tres relaciones de C:N (10:1, 15:1 y 20:1). Los datos corresponden al promedio (8 semanas) ± desviación estándar. Los resultados fueron analizados por ANOVA de una sola vía y comparados por la prueba de Tuckey (p<0.05).

\* Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

#### 4.2.1. Tasas de crecimiento absoluta (TC, g.día<sup>-1</sup>) y específica (TCE, %.día<sup>-1</sup>)

La tabla 16 y las figuras 11, 12 y 13 muestran los valores para estos parámetros, lográndose verificar que las tasas de crecimiento tanto absolutas como específicas tienden a no presentar diferencias significativas entre los tratamientos, hasta la tercera semana; pero debido a la influencia climáticas (época de lluvias) en la calidad de agua y nutricionales (debidos al propio alimento del SBF), existen diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.



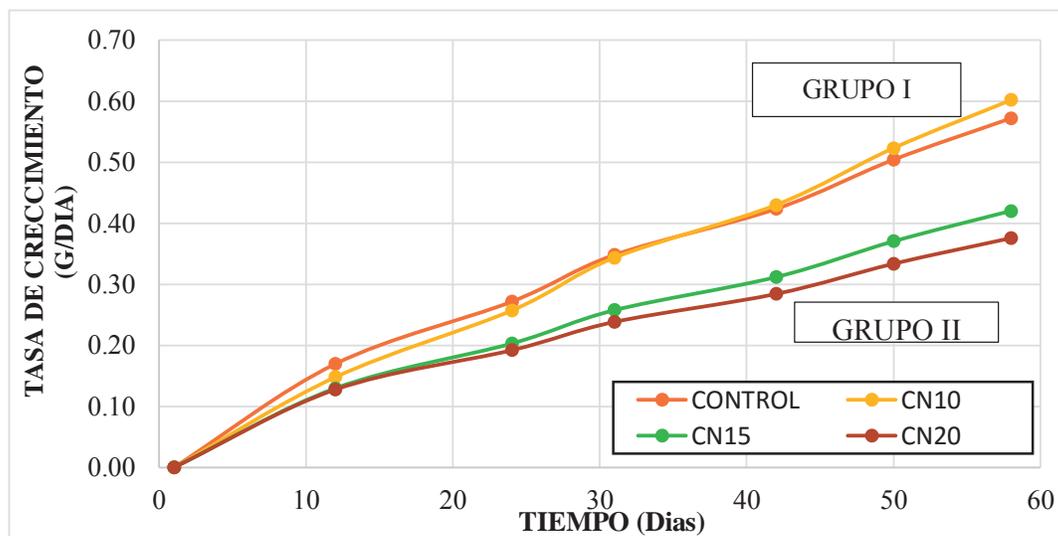
**Figura 11: Curva de crecimiento de *Oreochromis niloticus*, durante 58 días de experimentación.**

Al final de la experimentación los resultados se agruparon en dos grupos con tendencia semejante de crecimiento: Grupo I: Control y CN10 y Grupo II: CN15 y CN20; cada grupo con particularidades en común debido a la influencia que ejerce el tipo de cultivo y su dinámica.

En la figura 12 se tiene que el grupo II (CN15 y CN20) presenta una reducción en el crecimiento debido a las altas concentraciones de nitritos generadas por el alto contenido proteico del alimento (Tabla 15 y 17), bajas concentraciones de oxígeno disuelto y altos niveles de sólidos sedimentables (Avnimelech 2006), generando situaciones de estrés que tuvieron consecuencias letales.

El grupo I, conformado por los tratamiento control y CN10, no presentaron diferencias significativas en el crecimiento pese a las diferentes condiciones de cultivo. El control, por

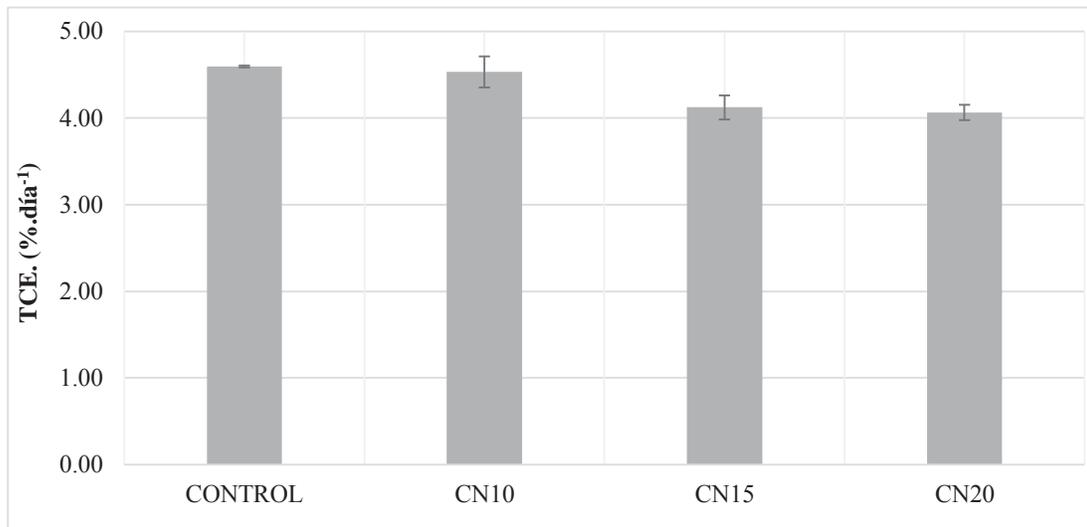
el hecho de contar con altas concentraciones de  $\text{NAT}$  y  $\text{NO}_2^-$  (superiores al de los SBF), conllevó a una mayor mortalidad de los individuos (Labib y Ha 2012, Mamun *et al.* 2007) permitiendo menor densidad de carga final. En el tratamiento CN10, la relación C:N ha garantizado en la mayoría de los casos, la reducción de las concentraciones de amoníaco (Goldman *et al.* 1987, Hargreaves 2006), permitiendo obtener buenos resultados en la performance de la tilapia (Avnimelech 2012<sup>a</sup>, Azim y Little 2008) sin embargo el contenido proteico del alimento (Fávero *et al.* 2010).



**Figura 12:** Tasas de crecimiento absoluto (TC,  $\text{g.día}^{-1}$ ) de *Oreochromis niloticus*, durante 58 días de experimentación.

Las tasas de crecimiento absoluta y específica presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) (Tabla 16). En el caso del tratamiento CN10, este presentó valores superiores al rango dado por investigaciones pasadas, reafirmando que el aprovechamiento de la proteína microbiana por parte de la tilapia generó una ganancia de peso adicional de alrededor del 44 por ciento, a diferencia de los cultivos intensivos (Azim y Little 2008).

Para el caso de la TCE hubo diferencias estadísticas entre el Grupo I y el Grupo II. Este parámetros aumentó a medida que disminuyó la relación C:N del sistema (Figura 13), probablemente debido a las altas concentraciones de nitritos y sólidos sedimentables, que podrían haber generado estrés en los peces, retardando el crecimiento de estos. Estos valores se encuentran dentro de los valores dados por (Abdel-Tawwab *et al.* 2010, El Sayed y Teshima 1992).



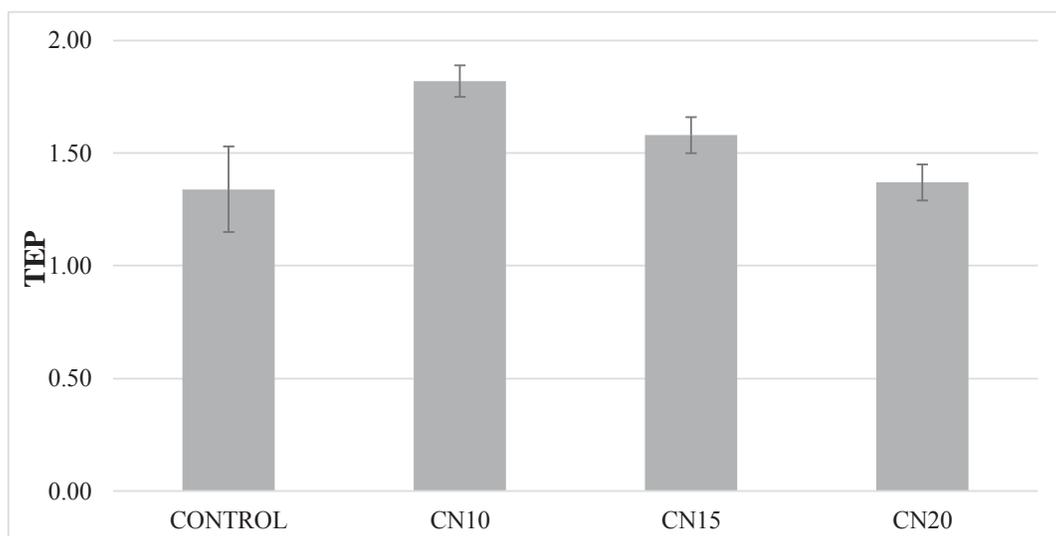
**Figura 13: Promedio y desviación estándar de la tasa de crecimiento específico de *Oreochromis niloticus*, luego de 58 días de experimentación.**

El crecimiento de la tilapia es muy rápido, si se sabe suplir los esenciales requerimientos que necesitan para fortalecer su sistema fisiológico. En cultivos convencionales se han reportado amplias variaciones en este aspecto, a medida que se va apostando por un cultivo intensivo, se optimiza y consigue mejores crecimientos del pez. Las tilapias, al considerarse como peces con una gran adaptabilidad a diferentes medios de cultivo, consiguen desarrollarse en los sistemas biofloc gracias al doble aprovechamiento del alimento y las óptimas condiciones de calidad de agua en el manejo del sistema. El consumo del *floc*, ayuda en el enriquecimiento nutricional de la especie debido a la presencia de organismos microbianos que representan nutrientes esenciales como aminoácidos y ácidos grasos esenciales (Avnimelech 2011, Azim *et al.* 2008, Emerenciano *et al.* 2012a, Lima *et al.* 2015, López *et al.* 2015).

Las ventajas de este sistema en el crecimiento de la tilapia han sido validadas a través de varias investigaciones. Avnimelech (2007) explica la potencial alimentación que brinda en el cultivo de *O. mossambicus*, donde el pez creció rápidamente mediante el consumo de sólo proteína microbiana durante las 24 horas. En cultivos de *Oreochromis niloticus*, los siguientes autores confirman lo anteriormente mencionado, Long *et al.* (2015), Luo *et al.* (2014) y Pérez *et al.* (2016). Además, haber sembrado a densidades de 750 peces.m<sup>-3</sup> permitió controlar las condiciones de inicio, a pesar que trabajar con sistemas biofloc permite triplicar las densidades alcanzando mayores pesos y a la par se da un mayor aprovechamiento del área de cultivo evitando casos de canibalismo y/o jerarquización propio de la especie.

#### 4.2.2. Tasa de eficiencia proteica (TEP)

La figura 14 muestra los resultados para los valores de las tasas de eficiencia proteica (TEP) obtenidas en los tratamientos. Estos presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el Control y CN20 frente a CN10; en este último, un kilo de proteína aporta alrededor de 1.82 kg en peso seco a diferencia del tratamiento control, donde sólo logra alcanzar 1.34 kg en peso seco, deduciendo que 0.6 kg es aportado por la tecnología biofloc. Este mismo comportamiento se observa en los tratamientos CN15 y CN20, que resultan ser numéricamente superiores al Control, asumiendo el aporte ya mencionado. En el caso del CN10, se observa claramente el papel de las bacterias heterótrofas en la formación de la proteína microbiana (De Schryver y Verstraete 2009) y la influencia de la adecuada calidad del agua, permitiendo el mejor aprovechamiento de la proteína ofrecida en el alimento.



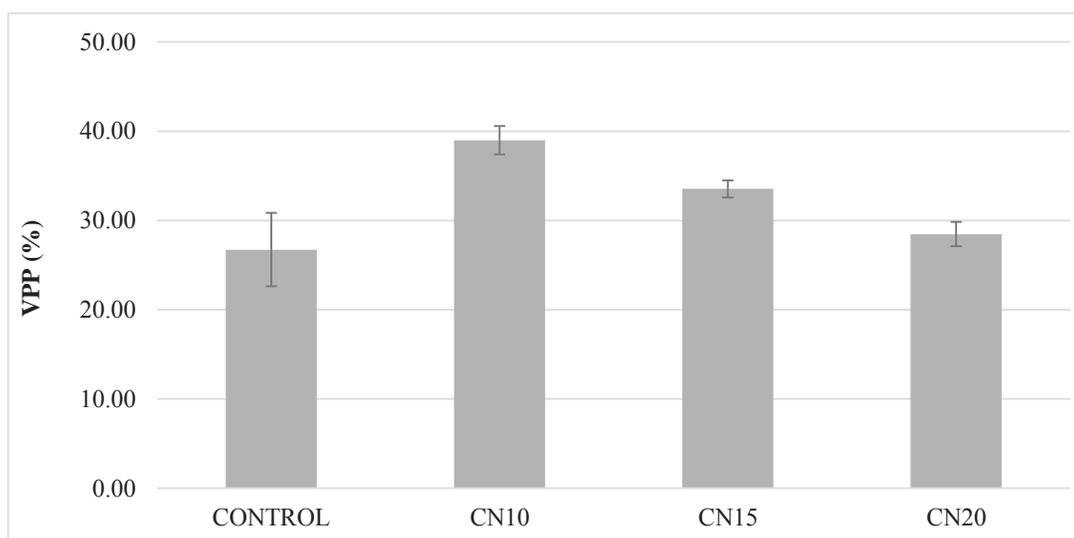
**Figura 14: Promedio y desviación estándar de la tasa de eficiencia proteica (TEP) de *Oreochromis niloticus* cultivados en sistema biofloc a diferentes relaciones C:N, luego de 58 días.**

Labib y Ha (2012), trabajaron con tilapia alimentados con dietas balanceadas (40 por ciento proteico) y obtuvieron tasas de eficiencias proteicas en un rango de 1.35 a 1.44, valores muy próximos a los obtenidos en el tratamiento control pero por debajo a los encontrados en los tratamientos SBF. En el caso de los cultivos SBF se reporta para el cultivo de *Litopenaeus vannamei*, valores de TEP de 1.66 (0.4 adicional del cultivo tradicional) (NICOVITA 2014), asumiéndose que el aumento de la tasa de eficiencia proteica es debido a que el SBF proporciona nutrientes esenciales, como las proteínas (Bakar *et al.* 2015, Ekasari *et al.* 2010,

Ju *et al.* 2008, Xu y Pan 2012) a través de variados organismos como oligoquetos, rotíferos, algas, protozoarios, entre otros (Avnimelech 2006, Lima *et al.* 2015).

#### 4.2.3. Valor de la proteína productiva (VPP, %)

En la tabla 16 y la figura 15 se observan los resultados para los valores de proteína productiva (VPP) que resultan tener diferencia significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos, con menores valores en el tratamiento control (26.73 %). Se puede observar que la tendencia del VPP tiende a disminuir a medida que se aumenta la relación C:N del sistema biofloc y resulta que en el tratamiento CN10, los peces retienen el 38.98 por ciento de la proteína ingerida, que comparado con el control, se asume una retención en más del 12 por ciento de la proteína ingerida, demostrando el eficiente aprovechamiento de la proteína en este sistema.



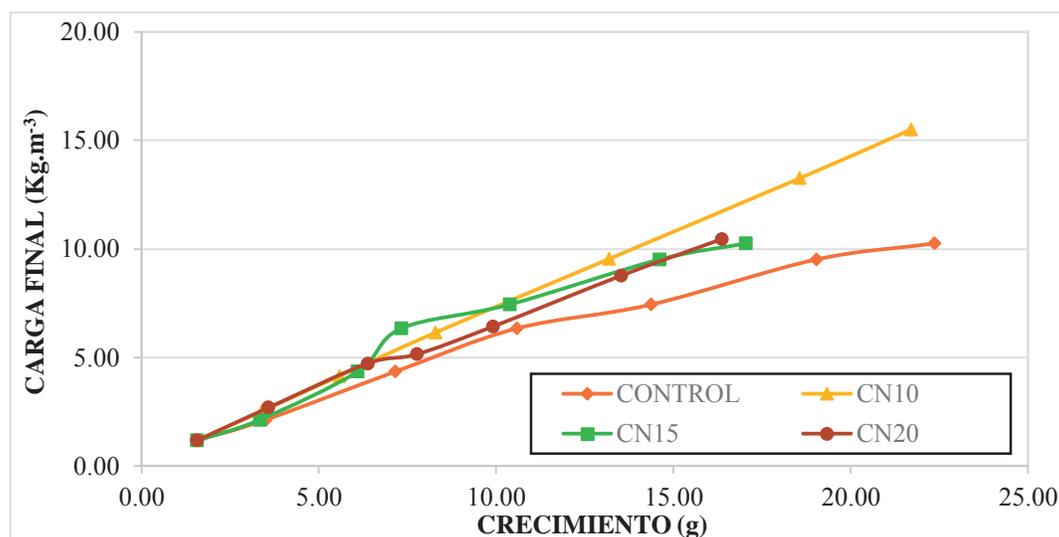
**Figura 15: Promedio y desviación estándar de los valores de la proteína productiva (VPP, %) de *Oreochromis niloticus* cultivados en sistema biofloc a diferentes relaciones C:N, luego de 58 días.**

En un experimento en cultivos semi-extensivo con pesos similares de tilapia gris, se alcanzó valores del 20 al 25 por ciento de VPP, con valores mayores a 2.20 de TCA (Labib y Ha 2012). En sistemas biofloc aún no se tiene reportes donde se explique a detalle este parámetro proteico; sin embargo, considerando que el VPP se ve influenciado por la cantidad de proteína disponible en el alimento (Abdel-Tawwab *et al.* 2010), permite entender que la cantidad de proteína que no es consumida por el pez, es utilizada en la formación de la proteína microbiana que al consumirse la retención aproximadamente un 50 por ciento.

#### 4.2.4. Carga Final (Kg.m<sup>-3</sup>)

En la figura 16 y la tabla 16 se tienen los valores de la carga obtenidas para los diferentes tratamientos, presentando diferencias significativas entre CN10 (15.50 Kg.m<sup>-3</sup>) y los demás tratamientos (CN15: 12.33 Kg.m<sup>-3</sup>, CN20: 10.35 Kg.m<sup>-3</sup> y CONTROL 10.24 Kg.m<sup>-3</sup>) (p<0.05).

Las bajas supervivencia en el tratamiento control ocasionaron una disminución en la carga de biomasa final, proporcionando una mayor área disponible que a su vez facilitó un rápido crecimiento (0.35 g.día<sup>-1</sup>) (Figura 16), en comparación de los tratamientos SBF con relaciones C:N de 15 y 20 (0,25-0,26 g.día<sup>-1</sup>). Sin embargo, comparando el control y el tratamiento CN10 (0.34 g.día<sup>-1</sup>), se dan diferencias significativas marcadas, debido a que este último presentó una mayor carga de peces por efecto de las altas tasas de supervivencia (95.56 por ciento), conllevando a alcanzar altos rendimientos con altas tasas de crecimiento por efecto de las óptimas condiciones de cultivo.

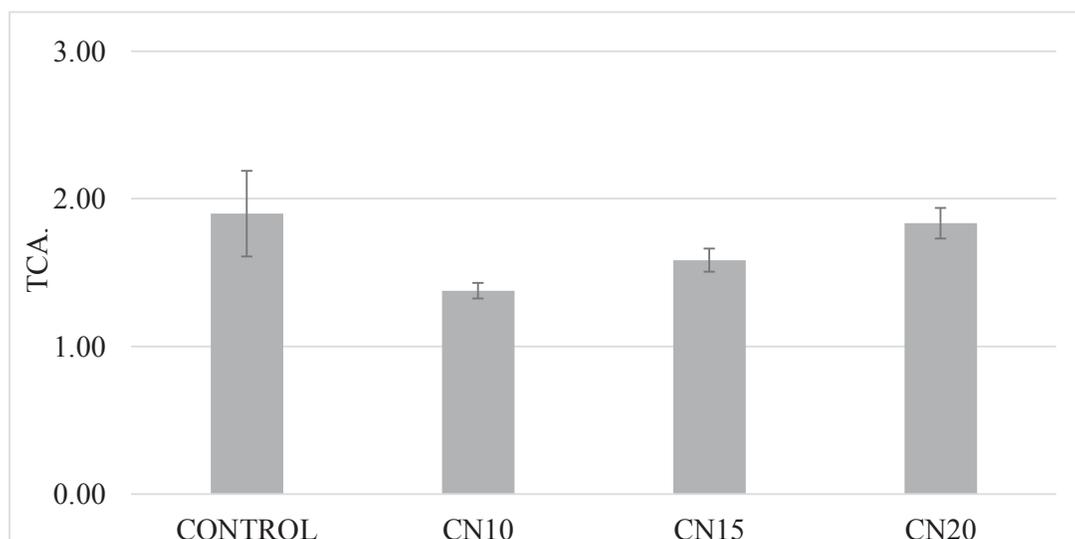


**Figura 16: Relación entre el crecimiento (g) y el rendimiento (Kg.m<sup>-3</sup>) de *Oreochromis niloticus*, durante 58 días de experimentación.**

Obtener cargas en los tratamientos biofloc entre 10 y 15 Kg.m<sup>-3</sup>, ayuda a reafirmar lo mencionado por Hargreaves (2013), Azim y Little (2008), Avnimelech (2005), Avnimelech (2007) y Avnimelech (2012b), quienes consideran que con el sistema biofloc se ha logrado incrementar las cargas de cultivo entre 10 a 40 Kg.m<sup>-3</sup>.

#### 4.2.5. Tasa de conversión alimenticia (TCA)

Los valores obtenidos de TCA se muestran en la tabla 16 y la figura 17, se pueden observar diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ). El tratamiento CN10 presentó un TCA significativamente menor (1.37) que en el control (1.90) y numéricamente menor que los otros dos sistemas biofloc (CN15: 1.58, CN20: 1.83), como lo describe Azim y Little (2008), debido al aprovechamiento de la proteína microbiana por parte de la tilapia. En los SBF en función de la relación C:N, permite ahorrar hasta el 28 por ciento de alimento como el caso del tratamiento CN10; en este último tratamiento se refleja las buenas condiciones de cultivo y el ahorro de los costos de producción mediante la reducción de la cantidad de alimento y de su eficiente uso con esta nueva tecnología.



**Figura 17: Promedio y desviación estándar de las tasas de conversión alimenticia (TCA) de *Oreochromis niloticus*, luego de 58 días de experimentación.**

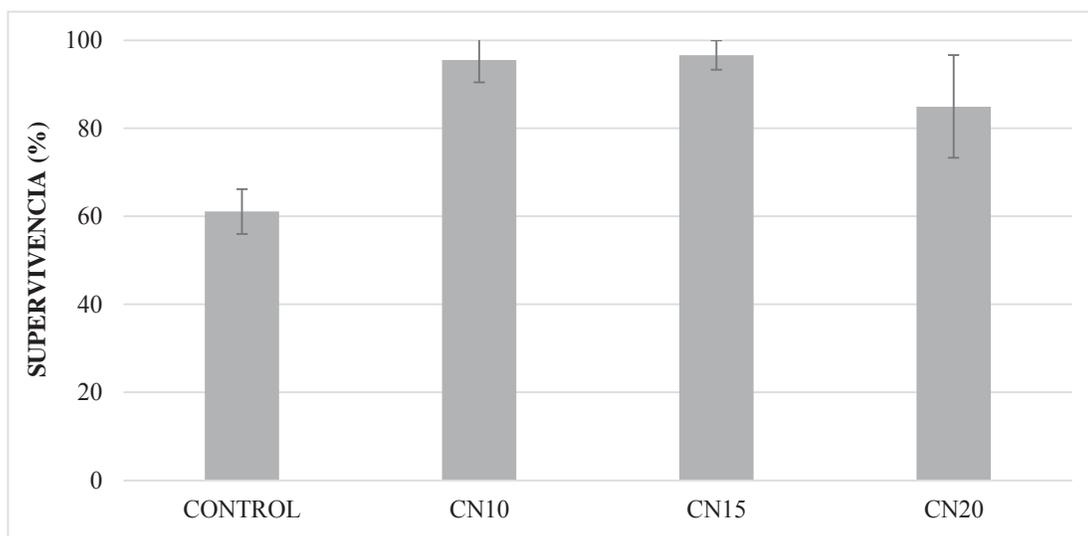
Este es un parámetro que permite determinar la relación costo-beneficio del alimento en la actividad acuícola (Ogello *et al.* 2014). La TCA está condicionado a la cantidad de proteína (Jover *et al.* 1998), trabajar con alimento balanceado del 25, 35 y 45 por ciento de contenido proteico genera valores de TCA de 1.81, 1.65 y 1.49, respectivamente (Abdel-Tawwab *et al.* 2010, Furuya 2010).

En otros casos, se ha obtenido mejores TCA, cuando se ofrece alimentos balanceados con 40 por ciento de proteína, en comparación con alimentos balanceados con 20 por ciento de proteína (1.32 y 2.09, respectivamente) en cultivos de alevines de tilapia gris (Jauncey 1982,

Siddiqui *et al.* 1988). El valor de CN10 se encuentra muy cercano a los obtenidos por estos autores, pero además es una forma de garantizar un eficiente aprovechamiento del alimento es por medio del manejo de óptimas condiciones de calidad de agua (Avnimelech *et al.* 2008).

#### 4.2.6. Supervivencia (expresado en %)

Los valores de supervivencia se presentan en la tabla 16 y la figura 18. Este parámetro presentó diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), siendo el menor valor para el tratamiento control con 61.11% mientras que los tratamientos con sistemas biofloc presentaron por encima del 85% (Máx.: 100%, Mín.: 75%), correspondiendo el mayor valor al tratamiento CN10 (95.56%).



**Figura 18: Promedio y desviación estándar de la supervivencia de *Oreochromis niloticus*, después de 58 días de experimentación.**

La elevada mortalidad (38.89%) del tratamiento control se debió al estrés ocasionado por la renovación de agua y la acumulación de compuestos nitrogenados tóxicos; situación que no se dio en los tratamientos SBF, donde en principio tiene como principal factor limitante la producción de sólidos. Como se recalca, la mortalidad de peces se debe a una serie de problemas que se presentan durante su cultivo, desde aspectos medioambientales, nutricionales y patológicos (Kubitza 1998). Los estadios iniciales son los más difíciles de controlar, porque normalmente en cultivos intensivos se reportan tasas de hasta el 70% (Popma y Green 1990).

Por otro lado, sembrar bajas densidades (0.01 pez.l<sup>-1</sup>) y mantener óptimas condiciones de cultivo han permitido que en cultivos semi-extensivos se logren tasas de supervivencias de hasta 95 por ciento (De Oliveira *et al.* 2007, Dos Santos *et al.* 2009). Sin embargo desaprovechar grandes volúmenes de agua y espacio conlleva a menores ganancias productivas, es por ello que a través de la tecnología biofloc, se logra aumentar la densidad e inmunidad de los peces cultivados (Ogello *et al.* 2014, Ekasari *et al.* 2015, Long *et al.* 2015, Pérez-Fuentes *et al.* 2016), teniendo como resultado altos valores de supervivencia que van por encima del 90 por ciento (Azim y Little 2008, Lima *et al.* 2015).

#### 4.3. Análisis de la retención proteica y lipídica corporal de *Oreochromis niloticus* y la relación C:N del sistema biofloc.

En la tabla 17 se muestran los valores del análisis químico proximal del alimento, los lodos conformados por los flóculos de cada tratamiento biofloc (SBF) y los peces de cada tratamiento. Todos los parámetros cumplieron con la prueba de normalidad Anderson-Darling ( $p < 0.05$ ), previamente se realizó la transformación del *Arco coseno* por tratarse de valores en porcentaje.

**Tabla 17: Promedio y desviación estándar de la composición químico proximal del alimento, *floc* y *Oreochromis niloticus* cultivados en sistemas biofloc a diferentes relaciones C:N.**

NUTRIENTE (%)	ALIM.	BF 10	BF 15	BF 20	PEZ	TRATAMIENTO			
						Control	CN10	CN15	CN20
Humedad <sup>a</sup>	3.50	30.64	31.44	35.64	-	74.30±1.38 a	73.33±2.78 a	73.25±1.36 a	73.59±1.61 a
Proteína	40.02	42.33	43.06	40.83	7.34	18.02±0.75 b	19.05±1.63 a	18.50±0.83 ab	18.78±0.54 ab
Lípido	9.00	3.42	3.01	2.99	-	2.37±0.36 a	1.48±0.36 b	1.94±0.40 b	1.82±0.12 b
Carbohidrato	36.78	5.01	1.89	0.89	-	2.95±0.06 a	3.38±0.55 a	3.48±0.63 a	3.49±0.30 a
Ceniza	10.70	18.60	20.60	19.65	-	2.35±0.58 a	1.75±0.66 b	1.83±0.41 b	2.32±0.30 a

<sup>(a)</sup> Excepto la humedad (%), los demás valores están en términos de materia seca.

Como se puede observar el alimento extruido comercial presentó 40 por ciento de contenido proteico y 9 por ciento de contenido lipídico, resultando adecuado para la alimentación de

las etapas iniciales de *Oreochromis niloticus*. En cuanto a los *flocs*, cuantitativamente no presentaron diferencias en su análisis químico proximal entre los tratamientos SBF; a excepción de los carbohidratos, donde el tratamiento CN10 presentó los mayores valores (5.01%). Según lo mencionado por Hisano y Portz (2007), quienes emplearon un alimento con similares características (40 por ciento de contenido proteico) en tilapias con pesos entre 1 a 25 g, logran obtener buenos resultados a nivel de carga y bajos TCA, al igual que Furuya (2010) y Siddiqui *et al.* (1988); resultados que se reflejan en la presente investigación. Con respecto al contenido lipídico de la dieta, de acuerdo a lo que recomienda Guillaume (2001), concentraciones hasta del 10 por ciento en el alimento balanceado, aseguran un gran aporte energético; siempre y cuando se cuenten con todos los ácidos grasos esenciales para el pez. Trabajar con un alimento balanceado con el 9 por ciento de contenido lipídico corrobora cumplir con los requisitos alimenticios para la tilapia (5 al 12 por ciento de contenido lipídico) (Lim *et al.* 2009).

Ante lo explicado, el empleo del sistema biofloc en la presente experimentación, ha permitido mitigar las concentraciones de los componentes propios de la eutrofización, mediante su aprovechamiento en la formación de proteína microbiana, que no es más que, una ecología de flóculos diversos en tamaño y aporte nutricional (Avnimelech 2006, Azim *et al.* 2008, Choo y Caipang 2015). La calidad del *floc* está influenciada directamente por el aporte nutricional, su digestibilidad y densidad de partículas suspendidas (Azim y Little 2008, Hargreaves 2006).

La composición proximal del *floc* de los tratamientos evaluados, resultaron ligeramente variables (Tabla 17), con contenido proteico entre 40.83 y 42.33 por ciento, contenido lipídico entre 2.99 y 3.42 por ciento, contenido de carbohidratos entre 0.89 y 5.01 por ciento (disminuyendo a medida que aumenta la relación C:N de los sistemas biofloc); el contenido de ceniza entre 18.60 y 20.60 por ciento, y el contenido de humedad entre 30.64 y 35.64 por ciento.

Según lo mencionado por De Schryver y Verstraete (2009), a mayor relación C:N se produce un mayor contenido de proteína en el *floc*, sin embargo en la presente investigación se observa un comportamiento variable (C:N10: 42.33 por ciento, C:N15: 43.06 por ciento, C:N20: 40.83 por ciento); por otro lado Nahar *et al.* (2015) en el cultivo de *O. niloticus* en SBF con alimento extruido con 40 por ciento de contenido proteico, obtuvieron un *floc* con

14.4 por ciento de contenido proteico; caso contrario a lo afirmado por Azim y Little (2008), quienes encontraron en el *floc* valores de 38 por ciento de contenido proteico en base seca.

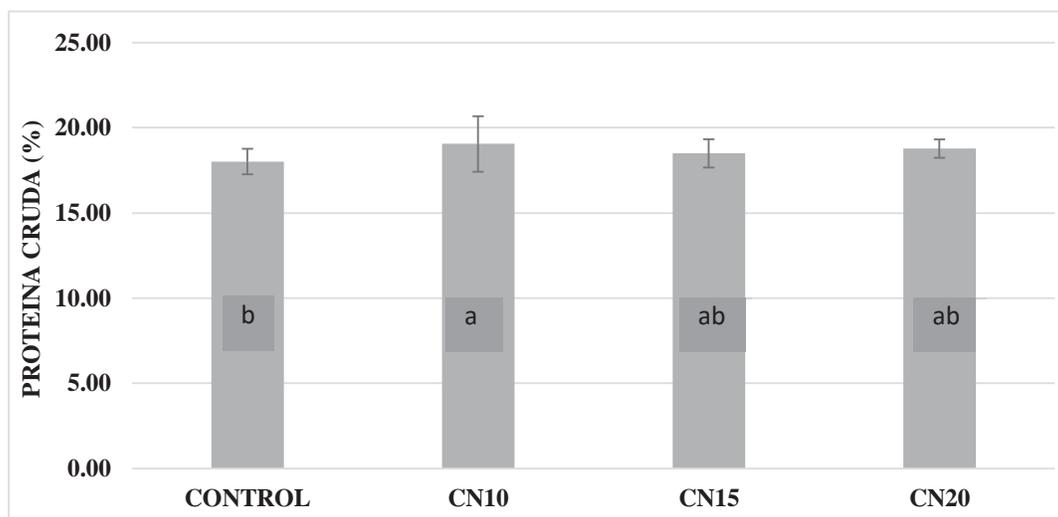
Las investigaciones anteriores muestran una variabilidad de la composición proteica en el *floc* que probablemente se debe a la influencia de una serie de particularidades, como la relación C:N del sistema biofloc, el aporte proteico del alimento, el ciclo de cultivo, la especie de cultivo y la diversidad en presencia de los microorganismos microbianos tales como bacterias, protozoarios, rotíferos, entre otros (Azim *et al.* 2008, De Schryver *et al.* 2008). Sin embargo las concentraciones de proteína obtenidas en el *floc*, se encuentran dentro de los valores reportados por Xu *et al.* (2012b). Por otro lado tal como se menciona, el contenido proteico de los sistemas SBF pueden haber estimulado la producción de enzimas digestivas (proteasas y proteinasas) en el pez, permitiéndole su asimilación y mejora en su rápido crecimiento (Crab *et al.* 2010)

En cuanto al aporte de lípidos por parte de los SBF, este se observa en bajas cantidades probablemente debido a la falta de enriquecimiento mediante inóculo de microalgas con alto contenido de ácidos grasos esenciales (Crab *et al.* 2010). Varias experimentaciones han trabajado con *floc*, cuyo contenido lipídico iban del 2 al 5 por ciento (Azim y Little 2008, Azim *et al.* 2008, Crab *et al.* 2010). La obtención de *floc* con contenido lipídico de alrededor del 3 por ciento, se relaciona con lo obtenido por Nahar *et al.* (2015), quienes obtuvieron un *floc* con 3.45 por ciento de lípidos, al cultivar alevines de *O. niloticus* en sistema biofloc con alimento extruido con 40 por ciento de contenido proteico, valor muy similar al obtenido en el presente trabajo.

#### **4.3.1. Relación la retención proteica corporal de *Oreochromis niloticus*, y la relación C:N del sistema biofloc.**

Los valores para el contenido proteico corporal se muestran en la tabla 17 y figura 19. Al observar los resultados de contenido proteico en los peces, y tomando en cuenta que al inicio de la experimentación se determinó el contenido corporal de una muestra cuyo valor inicial fue del 7.34 por ciento. Los resultados obtenidos durante la experimentación refieren que el contenido de proteína corporal aumentó y presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), numéricamente superior en los tratamientos SBF (CN10: 19.05%, CN15: 18.50% y CN20:

18.78%) a comparación del tratamiento control (18.02 por ciento), probablemente al mayor consumo de proteína debido a la presencia de microorganismos microbianos, tales como bacterias, protozoarios, rotíferos, etc. (Azim *et al.* 2008). Además cabe resaltar que existen otros factores que determinan el contenido proteico del pez, propios del sistema biofloc, como el manejo del sistema, comunidades microbianas existentes, relación de C:N, fuente externa de carbono orgánico, entre otros (De Schryver *et al.* 2008).



**Figura 19: Promedio y desviación estándar de los contenidos proteicos corporales de *Oreochromis niloticus* cultivados en sistema biofloc a diferentes relaciones C:N.**

La adaptabilidad de la tilapia al sistema biofloc, permite aprovechar eficientemente el *floc*, no obstante significa, que se asuma como la totalidad de alimento, sino se ve como alimento recuperado a través del reciclaje de la proteína (eficiencia) (Magundu *et al.* 2015). Además, en recientes investigaciones dadas por Zhou *et al.* (2009), han considerado que la composición química proximal de los individuos cultivados es consecuencia del alimento consumido, y de la estimulación de enzimas exógenas (aspectos fisiológicos).

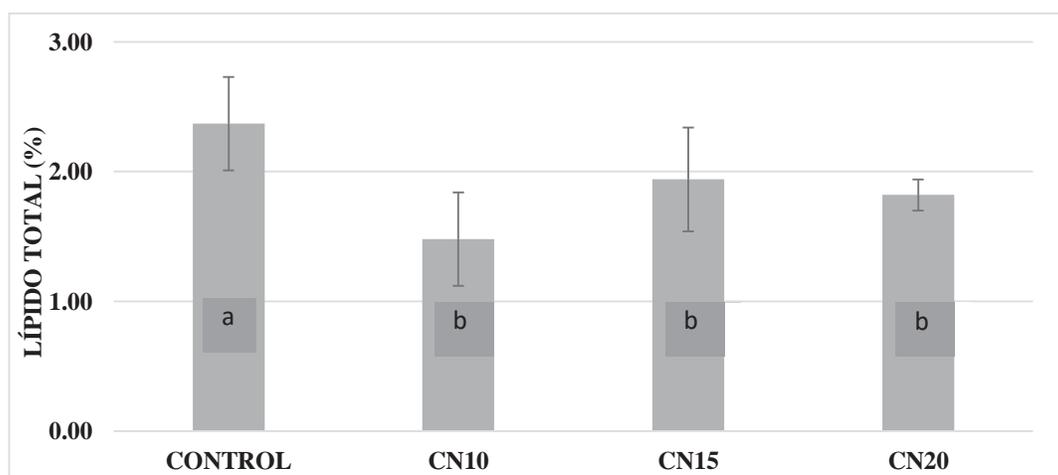
Abdel-Tawwab *et al.* (2010) determinaron que con un alimento de 40 por ciento de contenido proteico, obtienen altos contenidos proteicos en el cuerpo del pez (por encima del 16 por ciento), necesario para los primeros estadios de vida en los cultivos convencionales. Van *et al.* (2011), mediante la utilización de la Ecuación 1, establece una relación del contenido proteico de la tilapia en función de su peso en gramos; de ser de esta manera, nuestros resultados tabulados serían los siguientes: Control: 16.31%, CN10: 16.29%, CN15: 16.20%, CN20: 16.19%. En cambio, los resultados obtenidos en la presente investigación muestran

valores por encima de los tabulados (Figura 19), resultando ligeramente diferentes entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), debido a las condiciones del manejo de la alimentación y del tipo de cultivo empleado.

En el caso de los cultivos convencionales, el contenido proteico de la tilapia es influenciado por varios factores como son, el sexo, medioambiente. Sin embargo Santos *et al.* (2012) mencionan que el contenido proteico el pez es afectado significativamente por el aporte proteico del alimento y la edad del pez. Estos componentes aumentan a medida que el pez aumenta su peso; otros autores afirman lo citado anteriormente, pero mencionan que el aumento se da en pequeñas cantidad (Leal *et al.* 2010).

#### 4.3.2. Relación entre la retención lipídica corporal de *Oreochromis niloticus*, y la relación C:N del sistema biofloc.

Los resultados obtenidos en el contenido corporal lipídico de las tilapias (Tabla 16) presentaron diferencias significativas entre el control y los tratamientos con sistema biofloc ( $p < 0.05$ ), resultando valores menores en estos últimos (desde 1.48 hasta 1.94 por ciento) como se observa en la Figura 20.



**Figura 20: Promedio y desviación estándar de los contenidos lipídicos corporal de *Oreochromis niloticus* cultivados en sistema biofloc a diferentes relaciones C:N.**

El contenido lipídico de la tilapia según Guillaume (2001), Leal *et al.* (2010) y Santos *et al.* (2012), es influenciado significativamente por el aporte lipídico del alimento y la edad del pez, debido a la estrecha relación directa entre estos (Halver y Haldy 2002).

Las tilapias de la presente investigación han presentado contenidos lipídicos bajos en relación al aporte dietario (9.0 por ciento), comportamiento similar al reportado por Van *et al.* (2011), donde para sistemas convencionales de cultivo y trabajando con una dieta con aporte lipídico del 8.5 por ciento, obtuvo contenidos lipídicos del 5.53 por ciento en alevines de tilapia. Esto se debe a que los lípidos de la dieta, es uno de los nutrientes que proporciona energía primaria, de tal modo que contribuye en el ahorro de la energía proteica que es destinada en su mayoría, al crecimiento del pez (Halver y Haldy 2002).

## V. CONCLUSIONES

1. El sistema biofloc con relación Carbono:Nitrógeno (C:N) de 10:1 fue significativamente superior a los demás tratamientos con sistemas biofloc y al control; dado que presentó óptimas concentraciones de pH (7.53), bajas concentraciones de compuestos nitrogenados tóxicos (NAT: 0.91 mg.l<sup>-1</sup>, NO<sub>2</sub>: 0.25 mg.l<sup>-1</sup>) y bajas concentraciones de sólidos sedimentables (38.61 ml.l<sup>-1</sup>).
2. En los sistemas biofloc, la alcalinidad y la producción de sólidos sedimentables aumentan, a medida que aumenta la relación C:N en los sistemas biofloc (CN10: 49.72 mg.l<sup>-1</sup>, 38.61 ml.l<sup>-1</sup>; CN15: 94.28 mg.l<sup>-1</sup>, 43.11 ml.l<sup>-1</sup> CN20: 141.93 mg.l<sup>-1</sup>, 46.74 ml.l<sup>-1</sup>).
3. Los parámetros productivos en los juveniles de *Oreochromis niloticus* cultivados en sistema biofloc a una relación Carbono:Nitrógeno (C:N) de 10:1 fueron significativamente superiores a los demás tratamientos con sistemas biofloc y al tratamiento control; presentando alta tasa de supervivencia (95.56%), biomasa final (620 g), tasa de crecimiento absoluto (0.34 g.día<sup>-1</sup>), tasa de crecimiento específico (4.53 %.día<sup>-1</sup>) y carga final (15.50 Kg.m<sup>-3</sup>), y baja tasa de conversión alimenticia (1.37).
4. La retención proteica evaluada a través de la tasa de eficiencia proteica (TEP) y el valor de la proteína productiva (VPP), fue numéricamente mayor en los juveniles de *Oreochromis niloticus* cultivados en los tratamientos con sistema biofloc (SBF) (TEP: 1.37 a 1.82, VPP: 28.47 a 38.98%), en relación con el tratamiento control (TEP: 1.34, VPP: 26.73%).
5. A mayor relación C:N en los sistemas biofloc, se obtuvo una menor retención proteica en los juveniles de *Oreochromis niloticus*.

6. La retención lipídica corporal de los juveniles de *Oreochromis niloticus* cultivados en los sistema biofloc (desde 1.48 a 1.94%) fue inferior al tratamiento control (2.37%).

## VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, se recomienda:

1. Trabajar el SBF a una relación carbono:nitrógeno (C:N) de 10:1 para el cultivo de juveniles de *Oreochromis niloticus*.
2. Contemplar la etapa previa destinada a la preparación de los biorreactores de SBF, de este modo, la especie a cultivar no será expuesta a situaciones con altas concentraciones de compuestos nitrogenados tóxicos que pongan en riesgo su desarrollo.
3. Evaluar los parámetros productivos proteicos (Tasa de eficiencia proteica TEP, Valor de la proteína productiva VPP) en futuras investigaciones, de manera que permitan cuantificar el ahorro de proteína por parte de los SBF.
4. Evaluar el efecto de la frecuencia y velocidad de la remoción de sólidos en los SBF, sobre la conformación y cantidad de comunidades microbianas.
5. Realizar estudios sobre la conformación de las comunidades microbianas y su aporte nutricional al SBF.
6. Evaluar otras alternativas de reservas alcalinas para el manejo de los SBF; realizando previas pruebas en relación al alimento ofrecido o la interacción con los parámetros físico-químicos de la calidad de agua.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-TAWWAB, M; AHMAD, M. 2009. Effect of dietary protein regime during the growing period on growth performance, feed utilization and whole-body chemical composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture Research. 40(13): 1532-1537.

ABDEL-TAWWAB, M; AHMAD, M; KHATTAB, Y; SHALABY, A. 2010. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 298(3): 267-274.

ABDUL, Q; MOHAMMAD, S; HOWLADER Y; AHMAD, A. 1988. Effects of Dietary Protein Levels on Growth, Feed Conversion and Protein Utilization in Fry and Young Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Israeli Journal of Aquaculture and Fisheries Management. 70: 63-73.

AOAC (Association of Analytical Communities). 2005. Official Methods of Analysis of Association the Official Agricultural Chemists. 18va. Ed. 1-2.

APHA (American Public Health Association). 1998. Standard methods for the examinations of the water and wastewater. 22 ed. Washington, EE.UU.

ARIZA, B; GONZÁLEZ, L. 1997. Producción de proteína unicelular a partir de levaduras y melaza de caña de azúcar como sustrato. Tesis Bacteriología. Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia.

ASADUZZAMAN, M; WAHAB, M; VERDEGEM, M; AZIM, M; HAQUE, S; SALAM, M. 2008. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. Aquaculture. 280: 117-123.

ASADUZZAMAN, M; WAHAB, M; VERDEGEM, M; ADHIKARY, R; RAHMAN, S; AZIM, M; VERRETH, J. 2010. Effects of carbohydrate source for maintaining a high C/N ratio and fish driven re-suspension on pond ecology and production in periphyton-based freshwater prawn culture systems. *Aquaculture*. 301(1): 37-46.

AVNIMELECH, Y; WEBER, B; HEPHER, B; MILSTEIN, A; ZORN, M. 1986. Studies in circulated fish ponds: organic matter recycling and nitrogen transformation. *Aquaculture Research*. 17(4): 231-242.

AVNIMELECH, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. 176(3): 227-235.

AVNIMELECH, Y; RITVO, G. 2003. Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture*. 220(1): 549-567.

AVNIMELECH, Y. 2005. Tilapia harvest microbial flocs in active suspension research pond. *Global Aquaculture Advocate*. 8(5): 57-58.

AVNIMELECH, Y. 2006. Bio-filters: the need for an new comprehensive approach. *Aquacultural engineering*. 34(3): 172-178.

AVNIMELECH, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture*. 264(1): 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(1): 45-55.

AVNIMELECH, Y. 2009. *Biofloc technology: A practical guide book*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge.

AVNIMELECH, Y; KOCHBA, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using <sup>15</sup>N tracing. *Aquaculture*. 287(1): 163-168.

AVNIMELECH, Y. 2011. Tilapia production using biofloc technology (BFT). Proceedings of the Ninth International Symposium on Tilapia in Aquaculture. United States: AQUAFISH

Collaborative Research Support Program. 359: 361.

AVNIMELECH, Y. 2012a. Nitrogen Isotope: Tool To Evaluate Protein Uptake In Biofloc Systems. Global Aquaculture Alliance. 74-75 pp.

AVNIMELECH, Y. 2012b. Biofloc Technology: A Practical Guide Book. The World Aquaculture Society. Louisiana, United States. 2. Ed.

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(9): 3590-3599.

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(1): 29-35.

BAKAR, A; NASIR, M; LANANAN, F; HAMID, A; 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. 102:100-106.

BALTAZAR, P. 2007. La Tilapia en el Perú: acuicultura, mercado, y perspectivas. Revista Peruana de Biología. 13(3): 267-273.

BALTAZAR, P. 2009. Culture of Tilapia in Peru. Infopesca Internacional. 40: 21-26.

BOYD, C. 1998. Pond water aeration systems. Aquacultural Engineering. 18(1): 9-40.

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(1): 393-411.

BURFORD, M; THOMPSON, P; MCINTOSH, R; BAUMAN, R; PEARSON, D. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. Aquaculture. 232(1): 525-537.

- CAIPANG, C; CHOO, H; ZEMIN, B; HUILIN, H; LAY-YAG, C; LIM, J. 2015. Small-scale production of biofloc using various carbon sources for the freshwater culture of tilapia, *Oreochromis sp.* ABAH Bioflux. 7(1): 103-111.
- CHOO, H; CAIPANG, C. 2015. Biofloc technology (BFT) and its application towards improved production in freshwater tilapia culture. AACL Bioflux. 8(3): 362-366.
- COLLAZOS, L; ARIAS, J. 2015. Fundamentals of bioflocs technology (BFT). An alternative for fish farming in Colombia: A review. Orinoquia. 19(1): 77-86.
- COSTA, A; FRÓES, R. 2012. Produção de tilapias. Programa Rio Rural. Manual Técnico 31. 52p.
- CRAB, R; AVNIMELECH, Y; DEFOIRDT, T; BOSSIER, P; VERSTRAETE, W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture. 270(1): 1-14.
- CRAB, R; KOCHVA, M; VERSTRAETE, W; AVNIMELECH, Y. 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. Aquacultural Engineering. 40(3): 105-112.
- CRAB, R; CHIELENS, B; WILLE, M; BOSSIER, P; VERSTRAETE, W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. Aquaculture Research. 41(4): 559-567.
- CRAIG, S; HELFRICH, L. 2002. Understanding fish nutrition, feeds, and feeding. Virginia Cooperative Extension, Virginia Polytechnic Institute and State University, Publication, (420-256).
- DE LA MORA, G; VILLAREAL, E; ARREDONDO, J; PONCE, J; BARRIGA, I. 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.
- DE OLIVEIRA, E; SANTOS, F; PEREIRA, A; LIMA, C. 2007. Produção de tilápia: mercado, espécie, biologia e recria. Embrapa Meio-Norte. Circular Técnica.

DE SCHRYVER, P; CRAB, R; DEFOIRDT, T; BOON, N; VERSTRAETE, W. 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for Aquaculture. *Aquaculture*. 277(3):125-137.

DE SCHRYVER, P; VERSTRAETE, W. 2009. Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*. 100(3): 1162-1167.

DEMPSTER, P; BAIRD, D; BEVERIDGE, M. 1995. Can fish survive by filter-feeding on microparticles: Energy balance in tilapia grazing on algal suspensions. *Journal of Fish Biology*. 47(1): 7-17.

DOS SANTOS, E; ALMEIDA, M; MOTA, S; DANTAS, M; MEDEIROS, M. 2009. Crescimento e qualidade dos alevinos de tilápia do Nilo produzidos em esgoto doméstico tratado. *Revista Ciência Agronômica*. 40(2): 232-239.

EBELING, J; TIMMONS, M; BISOGNI, J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*. 257(1): 346-358.

EKASARI, J; CRAB, R; VERSTRAETE, W. 2010. Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. *HAYATI Journal of Biosciences*. 17(3): 125.

EKASARI, J; ANGELA, D; WALUYO, S; BACHTIAR, T; SURAWIDJAJA, E; BOSSIER, P; DE SCHRYVER, P. 2014. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*. 426:105-111.

EKASARI, J; RIVANDI, D; FIRDAUSI, A; SURAWIDJAJA, E; ZAIRIN, M; BOSSIER, P; DE SCHRYVER, P. 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture*. 441: 72-77.

EL SAYED, A; TESHIMA, S. 1992. Protein and energy requirements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fry. *Aquaculture*. 103(1): 55-63.

EL SAYED, A. 2003. Protein Nutrition of Farmed Tilapia: Searching for Unconventional Sources. Faculty of Science University of Alexandria. 364-378.

EL SAYED, A. 2006. Tilapia culture. CABI.

EMERENCIANO, M; CUZON, G; GOGUENHEIM, J; GAXIOLA, G. 2012a. Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. Aquaculture Research, 44(1): 75-85.

EMERENCIANO, M; BALLESTER, E; CAVALLI, R; WASIELESKY, W. 2012b. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). Aquaculture Research. 43(3): 447-457.

EMERSON, K; RUSSO, R; LUND, R; THURSTON, R. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effects of pH and temperature. (En línea). Consultado 18 de febrero del 2016. Disponible en: <https://mail.google.com/mail/u/0/#inbox/15444e6988bdaa2f>.

ESPEJO, C. 2012. Manejo industrial de las tilapias: Un inicio en el biofloc. (En línea). Consultado 03 de febrero del 2016. Disponible en: <http://revistas.udenar.edu.co/index.php/reipa/article/download/1531/1871>.

FÁVERO, G; BARROS, C; NUNEZ, J. 2010. Produção de Tilápias em Tanques-Rede. Faculdades Associadas de Uberaba. 7p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2014. Fisheries global information system: Fisheries and Aquaculture Department. Roma.

FLORES, M. 2013. Comparación de la sobrevivencia, incremento en longitud y ganancia de peso en alevines de tilapia roja con densidades de 0.75, 1.50, 3.00 y 6.00/L en hapas. Tesis de Pregrado. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano, Honduras.

FONDEPES (Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero). 2004. Manual de cultivo de Tilapia. Lima, Perú.

FREITAS, J; DA SILVA, A; DE OLIVEIRA, M; ARAUJO, G; DA SILVA, S. 2010. Alevinagem de tilápia utilizando uma ração comercial e outra à base de soja e milho. Revista Brasileira de Engenharia de Pesca. 5(2): 53-63.

FURTADO, P. 2011. O efeito do hidróxido de cálcio, do carbonato e bicarbonato de sódio na qualidade de água e no desempenho zootécnico do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado com tecnologia de bioflocos (BFT). Tesis de Mestre em Aquicultura. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, Brasil.

FURTADO, P; POERSCH, L; WASIELESKY JR, W. 2015. The effect of different alkalinity levels on *Litopenaeus vannamei* reared with biofloc technology (BFT). Aquaculture international. 23(1): 345-358.

FURUYA W. 2010. Tabelas Brasileiras para a nutrição de tilapias. Gráfica Editora Toledo. 100p.

GAO, L; SHAN, H; ZHANG, T; BAO, W; MA, S. 2012. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system. Aquaculture. 342: 89-96.

GOLDMAN, J; CARON, D; DENNETT, M. 1987. Regulation of gross growth efficiency and ammonium regeneration in bacteria by substrate C: N ratio. Limnology Oceanograph. 32(6): 1239-1252.

GÓMEZ, M; GRANADOS, K; PADILLA, C; LÓPEZ, M; NÚÑEZ, G. 2011. Edad y crecimiento del híbrido de tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* (Perciformes: Cichlidae) en la represa “Zimapán” Hidalgo, México. Revista de Biología Tropical. 59(2):761-770.

GREEN, B; BOYD, C. 1995. Chemical budgets for organically fertilized fish ponds in the dry tropics. Journal of the World Aquaculture Society. 26(3): 284-296.

GUILLAUME, J. 2001. Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Springer Science & Business Media.

- HALVER, J., HARDY R. 2002. Fish nutrition. Third edition. 824 p.
- HANLEY, F. 1991. Effects of feeding supplementary diets containing varying levels of lipid on growth, food conversion, and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 93(4): 323-334.
- HARGREAVES, J. 2004. Managing Ammonia in Fish Ponds. SRAC (Southern Regional Aquaculture Center). N° 4603.
- HARGREAVES, J. 2006. Photosynthetic suspended growth systems in Aquaculture. *Aquacultural Engineering*. 34(3): 344-363.
- HARGREAVES, J. 2013. Biofloc Production Systems for Aquaculture. SRAC (Southern Regional Aquaculture Center). N° 4503.
- HARGROVE, L; WESTERMAN, P; LOSORDO, T. 1996. Nitrification in three-stage and single-stage floating bead biofilters in a laboratory-scale recirculating aquaculture system. *Aquacultural engineering*. 15(1): 67-80.
- HARI, B; KURUP, B; VARGHESE, J; SCHRAMA, J; VERDEGEM, M. 2004. Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture*. 241(1): 179-194.
- HARI, B; KURUP, B; VARGHESE, J; SCHRAMA, J; VERDEGEM, M. 2006. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture*. 252(2): 248-263.
- HEWITT, D. 1992. Response of protein turnover in the brown tiger prawn *Penaeus esculentus* to variation in dietary protein content. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 103(1): 183-187.
- HISANO, H; PORTZ, L. 2007. Redução de custos de rações para tilápia: A importância da proteína. *Bahia Agrícola*. 8(1): 42-45.
- HLOPHE, S; MOYO, N. 2013. The aquaculture potential of *Tilapia rendalli* in relation to its feeding habits and digestive capabilities. *Physics and Chemistry of the Earth Parts A/B/C*. 66: 33-37.

IZQUIERDO, M; FORSTER, I; DIVAKARAN, S; CONQUEST, L; DECAMP, O; TACON, A. 2006. Effect of green and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*. 12(3): 192-202.

JAUNCEY, K. 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapias (*Sarotherodon mossambicus*). *Aquaculture*. 27(1): 43-54.

JONES, C. 2002. Age and growth. In: The unique contributions of early life stages. *Fishery Science*. New York. 33-63.

JOVER, M; ZARAGOZA, L; IGUALADA, L; CARMONA, J. 1998. Crecimiento de tilapias (*Oreochromis niloticus*) con piensos extruidos de diferente nivel proteico. *Archivos de zootecnia*. 47(177): 2.

JU, Z; FORSTER, I; CONQUEST, L; DOMINY, W; KUO, W; DAVID HORGAN, F. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research*. 39(2): 118-133.

KUBITZA, F. 1998. Qualidade da água na produção de peixes - Parte III. *Panorama da Aquicultura*. 8(45): 35-43.

KUBITZA, F. 1999. Nutrição e Alimentação de Tilápias - Parte II. *Panorama da Aquicultura*. 9(53): 41-48.

KUHN, D; BOARDMAN, G; LAWRENCE, A; MARSH, L; FLICK, G. 2009. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. *Aquaculture*. 296(1): 51-57.

LABIB, E; HA, M. 2012. Nutritional studies on partial and total replacement of fishmeal by jojoba meal (*Simmondsia chinensis*) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings diets. *APCBEE Procedia*. 4: 196-203.

LEAL, A; DE CASTRO, P; DE LIMA, J; DE SOUZA E; DE SOUZA, R. 2010. Use of shrimp protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) feeds. *Aquaculture international*. 18(4): 635-646.

LIM, C; YILDIRIM, M; LI, M; WELKER, T; KLESIUS, P. 2009. Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus iniae* challenge. *Aquaculture*. 298(1): 76-82.

LIMA, E; SOUZA, R; WAMBACH, X; SILVA, U; CORREIA, E. 2015. Cultivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em sistema de bioflocos com diferentes densidade. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 16(4).

LITTLE, D; MURRAY, F; AZIM, E; LESCHEN, W; BOYD, K; WATTERSON, A, YOUNG, J. 2008. Options for producing a warm-water fish in the UK: limits to “Green Growth”. *Trends in Food Science & Technology*. 19(5): 255-264.

LONG, L; YANG, J; LI, Y; GUAN, C; WU, F. 2015. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 448: 135-141.

LÓPEZ, J; MORENO, A; MIRANDA, A; MARTÍNEZ, L; RIVAS, M; MÁRQUEZ, E. 2015. Proximate Composition of Bioflocs in Culture Systems Containing Hybrid Red Tilapia Fed Diets with Varying Levels of Vegetable Meal Inclusion. *North American Journal of Aquaculture*. 77(1): 102-109.

LOURES, B; RIBEIRO, R; VARGAS, L; MOREIRA, H; SUSSEL, F; POVH, J; CAVICHIOLO, F. 2008. Manejo alimentar de alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, associado às variáveis físicas, químicas e biológicas do ambiente. *Acta Scientiarum Animal Sciences*. 23: 877-883.

LUCHINI, L. 2006. Tilapia: su cultivo y sistemas de producción. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Panorama Acuícola, Argentina. 14p.

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; GAO, Q; WANG, C; LIU, W; SUN, D; LI, L; TAN, H. 2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia

(*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*. 422: 1-7.

MAGONDU, E; VERDEGEM, M; NYAKEYA, K; MOKAYA, M. 2015. Production of aerobic, anaerobic and anoxic bioflocs from tilapia sludge.?

MAMUN, S; FOCKEN, U; BECKER, K. 2007. Comparative digestion efficiencies in conventional, genetically improved and genetically male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research*. 38(4): 381-387.

MARTÍNEZ, M. 2006. Manejo Del cultivo de tilapia. BIDEAUSAID. Nicaragua. 15p.

MARTINS, A; HEIJNEN, J; VAN LOOSDRECHT, M. 2003. Effect of dissolved oxygen concentration on sludge settleability. *Applied microbiology and biotechnology*. 62(5-6): 586-593.

MARTINS, C; OCHOLA, D; ENDE, S; EDING, E; VERRETH, J. 2009. Is growth retardation present in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in low water exchange recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*. 298(1): 43-50.

McINTOSH, R. 2000. Changing paradigms in shrimp farming: Low protein feeds and feeding strategies. *Global Aquaculture Advocate*. 3(2): 44-50.

McINTOSH, R. 2001. Changing Paradigms in Shrimp Farming. V: Establishment of heterotrophic bacterial communities. *Global Aquaculture Alliance*.

MEER, M; HERWAARDEN, H; VERDEGEM, M. 1997. Effect of number of meals and frequency of feeding on voluntary feed intake of *Colossoma macropomum*. *Aquaculture Research*. 28(6): 419-432.

MEGAHED, M. 2010. The effect of microbial biofloc on water quality, survival and growth of the green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) fed with different crude protein levels. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*. 5(2): 119-142.

MEJÍA, C. 2014. Dinámica del nitrógeno en bioreactores de un sistema de producción de

alevinos machos de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con tecnología biofloc. Tesis de Pregrado. Facultad de Pesquería de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

MIKKELSEN, L; GOTFREDSEN, A; AGERBAEK, M; NIELSEN, P; KEIDING, K. 1996. Effects of colloidal stability on clarification and dewatering of activated sludge. *Water Science Technology*. 34(3-4): 660-669.

MONROY, M; LARA, D; CASTRO, J; CASTRO, G; EMERENCIANO, M. 2013. Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de biología marina y oceanografía*. 48(3): 511-520.

MOSCOSO, C. 2001. Producción de alevinos revertidos de Tilapia. Workshop Internacional de Tilapia. Tarapoto, Perú.

NAHAR, A; SIDDIK, B; CHAKLADER, R; HANIF, A; SHARKER, R; RAHMAN, M. 2015. Biofloc Technology in Aquaculture Systems Generates Higher Income in Mono-Sex Nile Tilapia Farming in Bangladesh. *Advances in Biological Research*. 9(4): 236-241.

NICOVITA. 2014. Eficiencia proteica del alimento en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*. (En línea). Consultado 10 de Marzo del 2016. Disponible en: <http://www.nicovita.com.pe/extranet/Boletines/Eficiencia%20Proteica.pdf>.

NIRCHIO, M; PÉREZ, J. 2002. Riesgos del cultivo de tilapias en Venezuela. *Interciencia*. 27(1): 39-44.

NOGUEIRA, A. 2003. Aspectos da Biologia Reprodutiva e Padrões de Crescimento da Tilápia *Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758, (Linhagem Chitralada) em Cultivos Experimentais. Tesis de Maestría. Universidade Rural Federal de Pernambuco, Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura. Pernambuco, Brasil.

OGELLO, E; MUSA, S; MULANDA, C; ABWAO, J; MBONGE, J. 2014. An Appraisal of the Feasibility of Tilapia Production in Ponds Using Biofloc Technology: A review. *International Journal of Aquatic Science*. 5(1): 21-39.

PÉREZ, S; CAPOTE, M. 2000. Nutrición y Alimentación de Tilapia Cultivada en América

Latina y el Caribe. Centro de Preparación Acuícola. Ministerio de la Industria Pesquera. La Habana, Cuba.

PÉREZ, J; PÉREZ, C; HERNÁNDEZ, M. 2013. Pond-reared Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii* with the biofloc system. *Aquaculture*, 400: 105-110.

PÉREZ, J; HERNÁNDEZ, M; PÉREZ, C; FOGEL, I. 2016. C: N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture*. 452: 247-251.

POPMA, T; GREEN, W. 1990. Reversión sexual de tilapia en estanques de tierra. Internationals Center for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station Auburn University US. Research and Development. 35: 31.

PRODUCE (Ministerio de Producción). 2013. Plan Nacional de Desarrollo Acuícola 2010 - 2021. Lima, Perú.

PRODUCE (Ministerio de Producción). 2015. Estadística de Pesca y Acuicultura del Perú. Lima, Perú.

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

RAY, J; SEABORN, G; LEFFLER, J; WILDE, S; LAWSON, A; BROWDY, C. 2010. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*. 310(1): 130-138.

RAY, J; LOTZ, M. 2014. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquacultural Engineering*. 63: 54-61.

RICKER, W. 1979. Growth rates and models. *Fish Physiology*. 8(1): 677-743.

RUIZ, J; TAPIA, R; GARCÍA, J; GONZÁLEZ, H. 2006. Evaluación de un cultivo semi-Intensivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en tanques circulares con aguas termales.

Revista Electrónica de Veterinaria. 7(11).

SANTOS, V; MARTINS, T; FREITAS, R. 2012. Composição corporal de linhagens de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes classes de comprimento. Ciência Animal Brasileira. 13(4): 396-405.

SCHNEIDER, O; SERETI, V; EDING, E; VERRETH, J. 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. Aquacultural engineering. 32(3): 379-401.

SCHNEIDER, O; SERETI, V; EDING, E; VERRETH, J. 2006. Molasses as C source for heterotrophic bacteria production on solid fish waste. Aquaculture. 261(4): 1239-1248.

SCHOCK, T; DUKE, J; GOODSON, A; WELDON, D; BRUNSON, J; LEFFLER, J; BEARDEN, D. 2013. Evaluation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) health during a superintensive aquaculture growout using NMR-based metabolomics. PloS one. 8(3): e59521.

SCHVEITZER, R; ARANTES, R; COSTÓDIO, P; DO ESPÍRITO SANTO, C; ARANA, L; SEIFFERT, W; 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.

SHNEL, N; BARAK, Y; EZER, T; DAFNI, Z; VAN RIJN, J. 2002. Design and performance of a zero-discharge tilapia recirculating system. Aquacultural Engineering. 26(3): 191-203.

SIDDIQUI, A; HOWLADER, M; ADAM, A. 1988. Effects of dietary protein levels on growth, feed conversion and protein utilization in fry and young Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 70(1): 63-73.

SILVA, K; WASIELESKY, W; ABREU P. 2013. Nitrogen and phosphorus dynamics in the biofloc production of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of the World Aquaculture Society. 44(1): 30-41.

SIMÃO, B; BRITO, L; MAIA, A; MIRANDA, L; AZEVEDO, C. 2013. Stocking densities and feeding strategies in shrimp and tilapia polyculture in tanks. Pesquisa Agropecuária

Brasileira. 48(8): 1088-1095.

SMITH, D; DALL, W. 1991. Metabolism of proline by the tiger prawn, *Penaeus esculentus*. Marine Biology. 110(1): 85–91.

SUITA, S. 2009. O uso da dextrose como fonte de carbono no desenvolvimento de bioflocos e desempenho do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em sistema sem renovação de água. Tese de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande do Sul, Brasil.

TACON, A; CODY, J; CONQUEST, L; DIVAKARAN, S; FORSTER, I; DECAMP, O. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. Aquaculture nutrition. 8(2): 121-137.

TIMMONS, M; EBELING, J; WHEATON, F; SUMMERFELT, S; VINCI, B. 2002. Recirculating aquaculture systems. NRAC Publication. (2): 01-002.

UGALDE, U; CASTRILLO, J. 2002. In Single cell proteins from fungi and yeasts. Applied Mycology and Biotechnology. Vol. 2. Agriculture and Food production.

VAN D; DIU, N; HAO, N; GLENCROSS, B. 2011. Development of a nutritional model to define the energy and protein requirements of tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 320(1): 69-75.

WAHAB, M; BERGHEIM, A; BRAATEN, B. 2003. Water quality and partial mass budget in extensive shrimp ponds in Bangladesh. Aquaculture. 218(1): 413-423.

WATANABE, T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. Fisheries Science. 68(2): 242-252.

WHANGCHAI, N; MIGO, V; ALFAFARA, C; YOUNG, H; NOMURA, N; MATSUMURA, M. 2004. Strategies for alkalinity and pH control for ozonated shrimp pond water. Aquacultural engineering. 30(1): 1-13.

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).

WILÉN, B; BALMER, P. 1999. The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. Water Res. 33 (2): 391–400.

WILÉN, B; NIELSEN, J; KEIDING, K; NIELSEN, P. 2000. Influence of microbial activity on the stability of activated sludge flocs. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 18(2): 145-156.

XU, W; PAN, L. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. Aquaculture. 356: 147-152.

XU, W; PAN, L; SUN, X; HUANG, J. 2012a. Effects of bioflocs on water quality, and survival, growth and digestive enzyme activities of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in zero-water exchange culture tanks. Aquaculture Research. 44(7): 1093-1102.

XU, W; PAN, L; ZHAO, D; HUANG, J. 2012b. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. Aquaculture. 350: 147-153.

ZHOU, X; WANG, Y; LI, W. 2009. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. Aquaculture: 287(3): 349-353.

ZONNEVELD, N; FADHOLI, R. 1991. Feed intake and growth of red tilapia at different stocking densities in ponds in Indonesia. Aquaculture. 99(1): 83-94.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1: Parámetros físicos-químicos del agua de cultivo del Centro Acuícola Artesanal en Camaragibe, Brasil.

PARÁMETROS	UNIDADES	VALORES
Temperatura	°C	31.0
Oxígeno Disuelto	mg.l <sup>-1</sup>	5.40
	% de Saturación	72.30
Ph	Sin unidades	7.20
Conductividad Eléctrica	mS.cm <sup>-1</sup>	0.07
Sólidos Disueltos Totales	mg.l <sup>-1</sup>	0
Salinidad	‰	0.03

### Anexo 2: Análisis químico proximal (proteína y lípidos).

Determinación del Análisis Proximal, basados en la metodología oficial de la AOAC (2005) como se describe en los siguientes ítems:

- Determinación de Proteína Total (N° 935.11 de la AOAC, 2005: Método Kjeldahl)

Expresado en porcentaje (%), nos permite calcular la cantidad de Nitrógeno Total expresado como Proteína total de una determinada muestra. Se obtiene por destrucción de la materia orgánica, convirtiendo al nitrógeno orgánico en iones de amonio (NH<sup>+</sup>4), obteniendo como resultado sulfato de amonio que sí se combina con un álcali fuerte (NaOH) libera amoniaco, este es destilado por arrastre de vapor y recibido por una solución de Ácido Bórico teniendo como resultado Borato de Amonio, que en cantidad es proporcional al nitrógeno liberado de la muestra.

Se pesó 0.10 g de muestra, y se adicionó 8 mL de Solución Digestora (Selenito de Sodio, Sulfito de Cobre, Sulfato de Potasio y Ácido Sulfúrico concentrado); colocar los tubos de ensayo en la cocina de digestión de nitrógeno a las siguientes temperaturas: 50, 100, 150, 200, 250 y 370 °C a 20, 30, 60, 30, 45 y 60 minutos, respectivamente. Luego se colocó la muestra digerida en el equipo de destilación, se agregó 5 ml de Hidróxido de Sodio e inmediatamente conectar para que se dé la destilación, a la par conectar el refrigerante y recibir el destilado en un Erlenmeyer que contiene 10 ml de Solución Indicadora. . Al destilado se tituló con Ácido Clorhídrico 0.05 N y se registró el gasto para determinar la cantidad de nitrógeno de la muestra a través de la siguiente fórmula.

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{\text{Gasto ml} \times \text{Normalidad} \times \text{Mequ de N}_2 \times 100\%}{\text{Muestra g}}$$

Donde:

%Nitrógeno: Porcentaje de nitrógeno de la muestra.

Gasto: Cantidad en mL de Ácido Clorhídrico.

Normalidad: Normal del Ácido Clorhídrico (0.05)

Mequ de N<sub>2</sub>: Miliequivalente del nitrógeno (0.014)

Muestra: Peso de la muestra en gramos.

Para la obtención de la cantidad de Proteína Bruta, se multiplica por el factor 6.25 (peces y carne).

$$\% \text{Proteína} = \% \text{Nitrógeno} \times 6.25$$

Donde:

%Proteína: Porcentaje de proteína de la muestra.

%Nitrógeno: Porcentaje de nitrógeno de la muestra.

- Determinación de lípidos Totales (N° 945.39 de la AOAC, 2005: Método Soxhlet)

Expresado en porcentaje (%), nos permite determinar la cantidad Extracto Etéreo Total o también llamado Grasa Total (lípidos) de una determinada muestra. Basándose en la extracción de la grasa de la muestra mediante un solvente (Hexano o éter), para depositarlo

y por método gravimétrico determinar el porcentaje.

Se pesó 3 gr de nuestros en un papel filtro Whatman #91, y se empaqueta. Además se utilizó un extractor Soxhlet, el cual en la parte superior se adicionó el solvente que posteriormente se realizó los lavados de la muestra y extracción de la grasa durante aproximadamente 3 h. Durante el análisis se registró los pesos del depósito al inicio y al final, y peso de la muestra a analizar, para que nos permita calcular a través de la siguiente fórmula.

$$\%Lípidos = \frac{(W_{lípido} - W_{inicio}) \times 100\%}{Muestra \text{ g}}$$

Donde:

%Grasa: Porcentaje de lípidos de la muestra.

W grasa: Peso del matraz con lípidos en gramos.

W inicio: Peso del matraz en gramos.

Muestra: Peso de la muestra en gramos.

### **Anexo 3: Determinación de cantidad de melaza a adicionar durante la experimentación.**

La adición de la fuente de carbono orgánico se realizaba tres veces a la semana (lunes, miércoles y viernes) a las 10:00 h de acuerdo a la relación C:N de cada tratamiento, el porcentaje de Carbono de la melaza (40%), el porcentaje de Proteína Bruta del alimento (40.05%), la relación C:N del alimento 7.81:1, el porcentaje de N<sub>2</sub> excretado por alevines de Tilapia Gris (*O. niloticus*) (82% según Green y Boyd, 1995), y el porcentaje de N<sub>2</sub> en la Proteína (16%) especificado por kilogramo de alimento balanceado extruido. Estas consideraciones se basan de acuerdo a lo establecido por De Schryver *et al.* (2008) en la siguiente ecuación:

$$M = \frac{D \times A \times \%N \times \%P \times \%N_{exc}}{\%C}$$

Donde:

M: Cantidad de melaza a adicionar.

D: Es la diferencia que existe en las relaciones C:N del sistema y del alimento.

A: Cantidad de alimento en gramos.

%N: Porcentaje de nitrógeno en la proteína (16%) (Craig y Helfrich, 2002).

%P: Porcentaje de proteína en el alimento (40.05%)

%C: Porcentaje de carbono en la melaza (40%)

%N<sub>exc</sub>: Porcentaje de nitrógeno excretado por la Tilapia Gris (82%) (Green y Boyd, 1995).

Fuente: Elaboración propia, adaptada de Schryver *et al.* (2008).

#### **Anexo 4: Manejo de remoción de sólidos del sistema biofloc.**

Un Sistema Biofloc con 66 ml.l<sup>-1</sup> de Sólidos Sedimentables en un Volumen Total de 40 litros.

Sólido Sedimentable 1 (SS): 66 ml.l<sup>-1</sup>

Volumen (V): 40 L

$$\text{Cant. Total de Sedimento} = \text{SS} \times \text{V}$$

$$\text{Cant. Total de Sedimento} = 66 \text{ ml.L}^{-1} \times 40 \text{ L} = 2,640 \text{ ml}$$

¿Cómo se busca llegar a tener un Sistema Biofloc con 45 ml.l<sup>-1</sup> de Sólidos Sedimentables?

Sólido Sedimentable 2 (SS): 45 ml.l<sup>-1</sup>

Volumen (V): 40 L

$$\text{Cant. Total de Sedimento} = \text{SS} \times \text{V}$$

$$\text{Cant. Total de Sedimento} = 45 \text{ ml.l}^{-1} \times 40 \text{ l} = 1,800 \text{ ml}$$

$$\text{Tengo un exceso de: Cant. Sedimento (exceso)} = 2,640 \text{ ml} - 1,800 \text{ ml} = 840 \text{ ml}$$

Calcular la cantidad en volumen que necesito extraer, desde lo obtenido por el Cono Imhoff.

$$66 \text{ ml} \quad \text{-----} \quad 1 \text{ l}$$

$$840 \text{ ml} \quad \text{-----} \quad \text{X} = 12 \text{ Litros.}$$

Se necesita extraer el volumen de 12 l para mantener los sólidos sedimentables en 45 ml.l<sup>-1</sup>.

**Anexo 5: Temperatura promedio (°C) de cada turno de medición, durante 58 días de experimentación.**

SEMANA	TEMPERATURA DEL AGUA (°C)		
	08:00 h	12:00 h	16:00 h
1	26.9	27.2	27.7
2	26.8	27.3	27.6
3	26.1	26.5	27.0
4	27.7	28.0	28.2
5	27.5	27.9	28.3
6	27.4	27.6	27.9
7	27.1	27.2	27.7
8	27.0	27.3	27.8

**Anexo 6: Valores máximos y mínimos de oxígeno disuelto (mg.l<sup>-1</sup>), durante las 8 semanas de experimentación.**

SEMANAS	TRATAMIENTOS			
	CONTROL	CN10	CN15	CN20
1	6.53 - 7.96	7.02 - 7.95	6.88 - 7.91	6.90 - 7.79
2	7.10 - 7.85	7.03 - 7.74	6.81 - 7.64	6.96 - 7.61
3	7.08 - 7.74	6.95 - 7.43	6.63 - 7.24	6.79 - 7.43
4	7.17 - 8.49	7.03 - 8.42	6.77 - 8.03	6.74 - 8.09
5	6.38 - 7.48	6.43 - 7.55	6.35 - 7.04	5.45 - 6.87
6	6.81 - 8.02	7.16 - 8.17	7.05 - 8.17	6.81 - 7.70
7	7.16 - 7.76	7.18 - 7.92	6.91 - 7.70	6.81 - 7.76
8	6.81 - 7.76	6.89 - 7.80	6.86 - 7.70	6.66 - 7.82

**Anexo 7: Porcentaje de amonio no ionizado en agua dulce a diferentes valores de pH y los valores promedios de NH<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y NAT en mg.l<sup>-1</sup>, de la experimentación.**

Temperatura (°C)	pH								
	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0
0	0,0083	0,0261	0,0826	0,261	0,820	2,55	7,64	20,7	45,3
1	0,0089	0,0284	0,0898	0,284	0,891	2,77	8,25	22,1	47,3
2	0,0097	0,0309	0,0977	0,308	0,968	3,00	8,90	23,6	49,4
3	0,0106	0,0336	0,106	0,335	1,05	3,25	9,60	25,1	51,5
4	0,0115	0,0364	0,115	0,363	1,14	3,25	10,3	26,7	53,5
5	0,0125	0,0395	0,125	0,394	1,23	3,80	11,1	28,3	55,6
6	0,0136	0,0429	0,135	0,427	1,34	4,11	11,9	30,0	57,6
7	0,0147	0,0464	0,147	0,462	1,45	4,44	12,8	31,7	59,5
8	0,0159	0,0503	0,159	0,501	1,57	4,79	13,7	33,5	61,4
9	0,0172	0,0544	0,172	0,542	1,69	5,16	14,7	35,3	63,3
10	0,0186	0,0589	0,186	0,586	1,83	5,56	15,7	37,1	65,1
11	0,0201	0,0637	0,201	0,633	1,97	5,99	16,8	38,9	66,8
12	0,0218	0,0688	0,217	0,684	2,13	6,44	17,9	40,8	68,5
13	0,0235	0,0743	0,235	0,738	2,30	6,92	19,0	42,6	70,2
14	0,0254	0,0802	0,253	0,796	2,48	7,43	20,2	44,5	71,7
15	0,0274	0,0865	0,273	0,859	2,67	7,97	21,5	46,4	73,3
16	0,0295	0,0933	0,294	0,925	2,87	8,54	22,8	48,3	74,7
17	0,0318	0,101	0,317	0,996	3,08	9,14	24,1	50,2	76,1
18	0,0343	0,108	0,342	1,07	3,31	9,78	25,5	52,0	77,4
19	0,0369	0,117	0,368	1,15	3,56	10,5	27,0	53,9	78,7
20	0,0397	0,125	0,396	1,24	3,82	11,2	28,4	55,7	79,9
21	0,0427	0,135	0,425	1,33	4,10	11,9	29,9	57,5	81,0
22	0,0459	0,145	0,457	1,43	4,39	12,7	31,5	59,2	82,1
23	0,0493	0,156	0,491	1,54	4,70	13,5	33,0	60,9	83,2
24	0,0530	0,167	0,527	1,65	5,03	14,4	34,6	62,6	84,1
25	0,0569	0,180	0,566	1,77	5,38	15,3	36,3	64,3	85,1
26	0,0610	0,193	0,607	1,89	5,75	16,2	37,9	65,9	85,9
27	0,0654	0,207	0,651	2,03	6,15	17,2	39,6	67,4	86,8
28	0,0701	0,221	0,697	2,17	6,56	18,2	41,2	68,9	87,5
29	0,0752	0,237	0,747	2,32	7,00	19,2	42,9	70,4	88,3
30	0,0805	0,254	0,799	2,48	7,46	20,3	44,6	71,8	89,0

Fuente: Emerson *et al.* (1975).

**Anexo 8: Valores promedios de N-NH<sub>3</sub>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NAT, N-NO<sub>2</sub> y N-NO<sub>3</sub> en mg.l<sup>-1</sup>, de la experimentación.**

TRATAMIENTO	N-NH <sub>3</sub>	N-NH <sub>4</sub>	N-NAT	N-NO <sub>2</sub>	N-NO <sub>3</sub>
CONTROL	0.021	1.710	1.731	0.106	0.206
CN10	0.018	0.694	0.711	0.078	0.235
CN15	0.028	0.428	0.456	0.118	0.202
CN20	0.061	0.421	0.482	0.131	0.200

**Anexo 9: Parámetros productivos de la tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) durante la etapa experimental.**

BIOMETRÍAS	BIOMASA (g)			SUPERVIVENCIA (%)			GANANCIA DE PESO (g)			CARGA (Kg.m <sup>-3</sup> )		
	CONT.	CN10	CN15	CN20	CONT.	CN10	CN15	CN20	CONT.	CN10	CN15	CN20
SIEMBRA	46.642	46.805	46.685	46.682	100	100	100	100	-	1.166	1.167	1.167
1	84.699	101.357	98.708	107.092	81	100	99	100	54.552	2.117	2.534	2.677
2	173.684	165.494	180.518	188.622	81	99	99	99	81.810	4.342	4.137	4.716
3	253.227	245.738	217.303	223.054	80	99	99	96	80.244	6.331	6.143	5.576
4	297.300	381.439	300.254	256.442	69	97	97	87	82.952	7.433	9.536	6.411
5	380.401	529.708	422.968	349.922	67	96	97	87	148.269	9.510	13.243	8.748
COSECHA	409.925	620.098	493.489	414.170	61	96	97	85	29.524	10.248	15.502	10.354

**Anexo 10: Fotografías de la experimentación.**



**Figura 21: Centro Acuícola Artesanal en Camaragibe, Brasil.**



**Figura 22: Aclimatación y manejo de alevines de tilapia gris.**



**Figura 23: Siembra de alevines de tilapia gris en los SBF.**



**Figura 24: Unidades experimentales de la investigación.**



**Figura 25: Medición de parámetros físico-químicos del agua.**

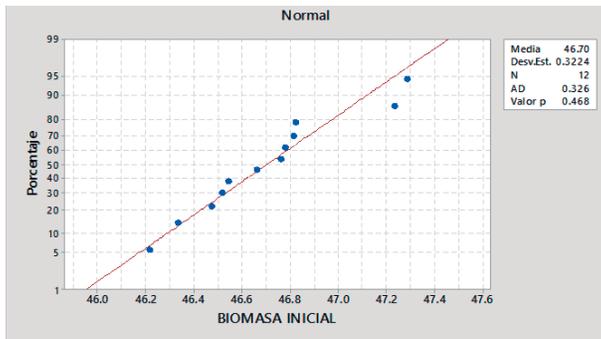


**Figura 26: Biometría semanal.**

## Anexo 11: Análisis estadístico de los parámetros productivos de la experimentación.

### 1. Biomasa inicial (g)

- Prueba de normalidad de Anderson-Darling ( $\alpha: 0.05$ )



La biomasa inicial se ajusta a una distribución normal ( $0.468 > \alpha$ ).

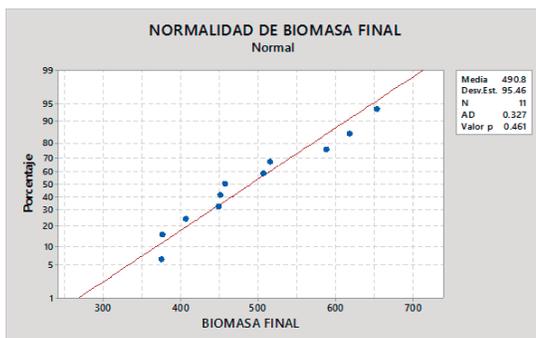
- Prueba ANOVA - Análisis de Varianza ( $\alpha: 0.05$ )

Factor	Niveles	Valores			
Tratamiento	4	1, 2, 3, 4			
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	0.04430	0.01477	0.11	<b>0.953</b>
Error	8	1.09905	0.13738		
Total	11	1.14335			

La biomasa inicial de los tratamientos tienen el mismo efecto ( $0.953 > \alpha$ ).

### 2. Biomasa final (g)

- Prueba de normalidad de Anderson-Darling ( $\alpha: 0.05$ )



La biomasa inicial se ajusta a una distribución normal ( $0.461 > \alpha$ ).

- Prueba ANOVA - Análisis de Varianza ( $\alpha: 0.05$ )

Factor	Niveles	Valores			
Tratamiento	4	1, 2, 3, 4			
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	81542	27181	19.84	<b>0.001</b>

Error	8	9588	1370
Total	11	91130	

- Análisis de medias

Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	3	409.93	0.06	(408.87, 409.99)
2	3	620.09	0.21	(619.88, 620.30)
3	3	493.49	0.50	(492.99, 493.99)
4	3	414.17	0.16	(414.01, 414.33)

La biomasa final de los tratamientos no tienen el mismo efecto ( $0.001 < \alpha$ ).

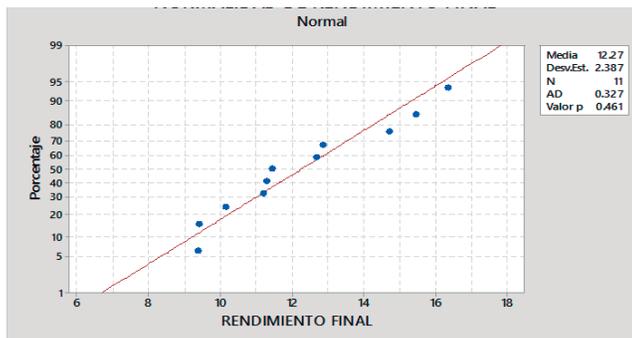
- Comparación de medias (Tuckey)

Tratamiento	N	Media	Agrupación
2	3	620.09	A
3	3	493.49	B
4	3	414.17	B
1	3	409.93	B

El tratamiento 2 es estadísticamente superior que los otros tratamientos.

### 3. Carga final ( $\text{Kg.m}^{-3}$ )

- Prueba de normalidad de Anderson-Darling ( $\alpha: 0.05$ )



La biomasa inicial se ajusta a una distribución normal ( $0.327 > \alpha$ ).

- Prueba ANOVA - Análisis de Varianza ( $\alpha: 0.05$ )

Factor	Niveles	Valores			
Tratamiento	4	1, 2, 3, 4			
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	50.964	16.988	19.84	<b>0.001</b>
Error	8	5.993	0.856		
Total	11	56.957			

- Análisis de medias

Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	3	10.24	0.93	(9.31, 11.17)
2	3	15.50	0.81	(14.69, 16.31)
3	3	12.33	0.78	(11.55, 13.11)
4	3	10.35	1.32	(9.03, 11.67)

La biomasa final de los tratamientos no tienen el mismo efecto ( $0.001 < \alpha$ ).

- Comparación de medias (Tuckey)

Tratamiento	N	Media	Agrupación
2	3	15.50	A
3	3	12.33	B
4	3	10.35	B
1	3	10.24	B

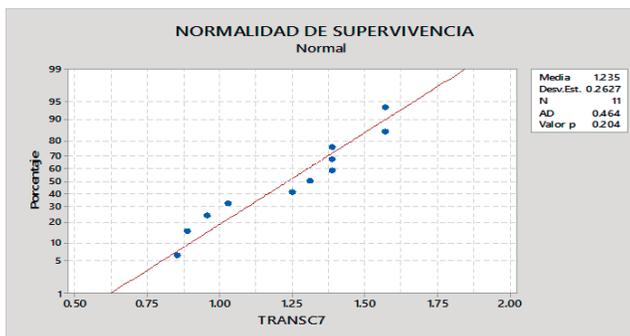
El tratamiento 2 es estadísticamente superior que los otros tratamientos.

#### 4. Supervivencia (%)

- Transformación de datos

$$\text{ASIN}(\text{SQRT}(\text{VARIABLE}/100))$$

- Prueba de normalidad de Anderson-Darling ( $\alpha: 0.05$ )



La biomasa inicial se ajusta a una distribución normal ( $0.204 > \alpha$ ).

- Prueba ANOVA - Análisis de Varianza ( $\alpha: 0.05$ )

Factor	Niveles	Valores			
Tratamiento	4	1, 2, 3, 4			
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	0.532	0.177	7.85	<b>0.012</b>
Error	8	0.158	0.023		
Total	11	0.690			

- Análisis de medias

Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	3	61.11	5.09	(56.02, 66.20)
2	3	95.56	4.09	(91.47, 99.65)
3	3	96.67	3.33	(93.34, 100.0)
4	3	85.00	11.67	(73.33, 96.67)

La biomasa final de los tratamientos no tienen el mismo efecto ( $0.012 < \alpha$ ).

- Comparación de medias (Tuckey)

Tratamiento	N	Media	Agrupación
3	3	96.67	A
2	3	95.56	A
4	3	85.00	AB
1	3	61.11	B

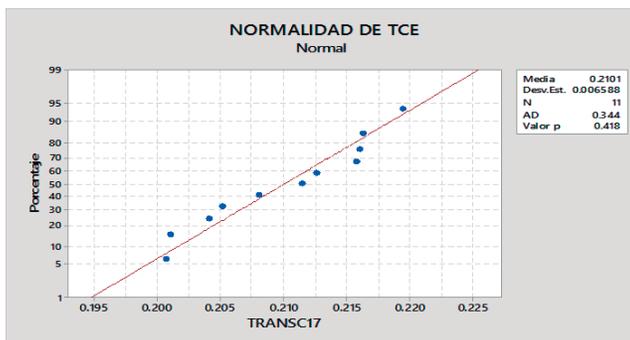
El tratamiento 3 y 2 son estadísticamente superior que los tratamientos 4 y 1.

5. Tasa de crecimiento específico (%.día<sup>-1</sup>)

- Transformación de datos

$$\text{ASIN}(\text{SQRT}(\text{VARIABLE}/100))$$

- Prueba de normalidad de Anderson-Darling ( $\alpha: 0.05$ )



La biomasa inicial se ajusta a una distribución normal ( $0.418 > \alpha$ ).

- Prueba ANOVA - Análisis de Varianza ( $\alpha: 0.05$ )

Factor	Niveles	Valores			
Tratamiento	4	1, 2, 3, 4			
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	0.363	0.121	11.87	<b>0.004</b>
Error	8	0.071	0.010		
Total	11	0.434			

- Análisis de medias

Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	3	4.60	0.01	(4.59, 4.61)
2	3	4.53	0.18	(4.35, 4.71)
3	3	4.12	0.14	(3.98, 4.26)
4	3	4.07	0.09	(3.98, 4.16)

La biomasa final de los tratamientos no tienen el mismo efecto ( $0.012 < \alpha$ ).

- Comparación de medias (Tuckey)

Tratamiento	N	Media	Agrupación
1	3	4.60	A
2	3	4.53	A
3	3	4.12	B
4	3	4.07	B

El tratamiento 1 y 2 son estadísticamente superior que los tratamientos 3 y 4.