

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN ACUICULTURA**



“SUBSTRATOS Y BIOFLOCS EN EL CULTIVO DE *Macrobrachium rosenbergii* EN ALTAS DENSIDADES DURANTE LA ETAPA DE ENGORDE”

Presentada por:

BETSI SUSANA BOADA MATA

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

Lima - Perú

2016

DEDICATORIA

*A Dios, mis padres y
querido novio*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), especialmente a los profesores y funcionarios del Programa de Posgrado en Acuicultura, por los conocimientos adquiridos y apoyo durante el tiempo de preparación.

Al Programa de Becas para Maestría otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) por el apoyo económico recibido como participante del Proyecto de la Maestría en Acuicultura (Convenio de Gestión N°017-2013-FONDECYT). A la profesora y coordinadora de la maestría, Beatriz Ángeles Escobar, que con mucha dedicación y entusiasmo hizo todo esto posible.

A la Universidad Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Estación de Acuicultura Continental Prof. Johei Koike (Base) y al Instituto de Tecnología de Pernambuco (ITP) por permitirme el uso de sus instalaciones.

Al profesor MSc. Fernando Galecio Regalado por su orientación, enseñanzas y paciencia, y al profesor Dr. Eudes de Souza Correia por su dedicación, apoyo, conocimientos y oportunidad para realizar esta investigación. Agradezco también al profesor Dr. Alfredo Olivera Gálvez, por su amistad, motivación y contribuciones para la elaboración del presente documento.

Al Laboratorio de Sistemas de Producción Acuícola (LAPAQ), a cargo del Dr. Eudes de Souza Correia, y a su equipo: Eduardo Rodrigues de Lima, Ítalo Braga, Marcelo Siquiera, Pedro Vinícius de Oliveira, Fabiana Penalva y Gabriela Ferreira, por la buena acogida, sus contribuciones, ayuda y compañerismo durante la instalación y cuidado del experimento.

Al Laboratorio de Producción de Alimento Vivo (LAPAVI), a cargo del Dr. Alfredo Olivera Gálvez, y a su equipo, especialmente a Hélder Santana de Lima y Marina Cunha Alves de Oliveira por su apoyo y contribución para la realización de este experimento.

A todos los compañeros de la maestría por estos dos años de convivencia, en especial a Katherine Lovera Zapata y Bruno Arroyo, con quienes se realizó la tesis en Brasil, por el apoyo, la amistad y las experiencias compartidas.

A mi madre María Inés Mata Morales, a mi padre Aldo Boada Rebata y mi novio Luis Ricardo Suárez Irigoyen, por todo su amor, comprensión e incentivos para poder llegar hasta donde estoy hoy. A Dios, por darme fuerzas, fe, salud y paz.

ÍNDICE GENERAL

<u>Contenido</u>	<u>Páginas</u>
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Características generales de la especie	4
2.2. Etapas de cultivo	6
2.3. Sistemas de cultivo	8
2.4. Condiciones de cultivo.....	9
2.5. Requerimientos nutricionales.....	11
2.6. Desempeño productivo de la especie en altas densidades	12
2.6.1. Crecimiento	12
2.6.2. Supervivencia	13
2.7. Uso de sustratos	14
2.7.1. Control de la calidad de agua	15
2.7.2. Mejoramiento del desempeño productivo	15
2.8. Tecnología de bioflocs.....	17
2.8.1. Control y manejo de la calidad de agua en sistemas con BFT	17
2.8.2. Mejoramiento del desempeño productivo	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1. Ubicación del experimento	22
3.2. Aclimatación de los camarones	23
3.3. Diseño experimental, unidades experimentales y manejo de los sistemas	24
3.3.1. Acondicionamiento de las unidades experimentales	24
3.3.2. Maduración de los sistemas	27
3.3.3. Siembra.....	29
3.3.4. Alimentación	29
3.4. Parámetros de desempeño productivo	30
3.5. Parámetros de calidad de agua.....	31
3.6. Análisis de alimento natural.....	32
3.7. Determinación de la composición proximal	35
3.7.1. Preparación y análisis de muestras	35
3.8. Análisis estadístico	39

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1. Parámetros físico-químicos del agua.....	40
4.1.1. Parámetros diarios	40
4.1.2. Parámetros semanales y quincenales	42
4.2. Desempeño productivo	47
4.2.1. Crecimiento y parámetros de productividad.....	47
4.2.2. Clasificación poblacional	51
4.3. Análisis del alimento natural	53
4.3.1. Plancton	53
4.3.2. Bentos	61
4.3.3. Perífiton	64
4.4. Análisis proximal.....	69
4.4.1. Bioflocs.....	69
4.4.2. Camarones	71
V. CONCLUSIONES.....	74
VI. RECOMENDACIONES.....	75
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	76
VIII. ANEXOS.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Localización de la hacienda en Vitória de Santo Antão y lugar de experimentación en UFRP (Recife, Pernambuco, Brasil).	22
Figura 3.2. Tanque de aclimatación para los camarones en la Estación de Acuicultura Profesor Johei Koike (UFRPE).....	23
Figura 3.3. Bandejas de alimentación para los camarones.....	23
Figura 3.4. Unidades experimentales localizadas en Estación de Acuicultura Profesor Johei Koike - Universidad Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).	25
Figura 3.5. Sedimentador para el control de sólidos en los tratamientos con tecnología de bioflocs con y sin sustrato.....	25
Figura 3.6. Malla de polietileno que se utilizó como sustrato para duplicar el área de superficie del tanque.....	26
Figura 3.7. Disposición de las mallas de polietileno en las unidades de cultivo de los tratamientos con sustrato (ST/S y BFT/S).....	26
Figura 3.8. Fertilización en los sistemas tradicionales (A) e inoculación en los sistemas con tecnología de bioflocs (B).....	28
Figura 3.9. Muestreo de alimento natural: (A) Tamices para recolección de fito y zooplankton, (B) colecta de perifiton, (C) Colecta de bentos.....	34
Figura 3.10. Procedimiento para la obtención de las muestras de camarón para realizar el análisis proximal: a) Muestro de los camarones al azar, b) desecación en estufa, c) trituración, d) muestra en polvo.....	35
Figura 3.11. Procedimiento para la obtención de las muestras de bioflocs para realizar el análisis proximal: a) Decantación de bioflocs mediante el uso de sedimentadores, b) colecta de bioflocs, c) concentración de bioflocs, d) desecación en estufa.....	36
Figura 4.1. Valores promedio (\pm DS) del nitrógeno amoniacal total (NAT), nitrógeno del nitrito (N-NO ₂), alcalinidad y sólidos sedimentables (SS) registrados semanalmente en los diferentes tratamientos durante los 64 días de periodo experimental.....	44
Figura 4.2. Valores promedio (\pm DS) del nitrógeno del nitrato (N-NO ₃), ortofosfato (PO ₄ ³⁻) y sólidos suspendidos totales (SST) registrados quincenalmente en los diferentes tratamientos hasta los 58 días de periodo experimental.	46
Figura 4.3. Evolución del crecimiento del fitoplancton en los diferentes tratamientos en las colectas realizadas.....	56
Figura 4.4. Evolución del crecimiento del zooplankton en los diferentes tratamientos en las colectas realizadas.....	59
Figura 4.5. Evolución del crecimiento del fitobentos en los sistemas tradicionales en las colectas realizadas.....	63

Figura 4.6. Evolución del crecimiento del fitoperifiton en los tratamientos con substratos en las colectas realizadas.....	65
Figura 4.7. Evolución del crecimiento del zooperifiton en los tratamientos con substratos en las colectas realizadas.....	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Fases y especificaciones del cultivo de <i>M. rosenbergii</i>	7
Tabla 2.2. Productividad obtenida de acuerdo a los diferentes sistemas de cultivo para el engorde de <i>M. rosenbergii</i>	9
Tabla 2.4. Especificaciones sobre la composición proximal del alimento formulado para <i>M. rosenbergii</i> bajo el control legislativo de Tailandia.....	11
Tabla 2.5. Tasa de alimentación y número de raciones al día de acuerdo al estadio de <i>M. rosenbergii</i>	12
Tabla 2.6. Datos de proteína y lípidos (%) obtenidos en la composición proximal de los bioflocs de diferentes investigaciones manejando la relación C/N y la fuente de carbono.....	20
Tabla 2.7. Resultados de desempeño productivo de <i>M. rosenbergii</i> obtenidos en diferentes investigaciones manejando la relación C/N y sustratos.....	21
Tabla 3.1. Análisis proximal del alimento comercial CAMANUTRI-35, destinado para langostinos juveniles (<i>Litopenaeus vannamei</i>) a partir de 5 g hasta la talla de cosecha....	30
Tabla 4.1. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos en los parámetros físico-químicos registrados en la mañana y tarde durante los 64 días de periodo experimental...41	41
Tabla 4.2. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos en los parámetros físico-químicos semanales y quincenales durante los 64 días de periodo experimental.	43
Tabla 4.3. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos en los parámetros productivos de <i>M. rosenbergii</i> durante los 64 días de periodo experimental.....	48
Tabla 4.4. Clasificación de los camarones de acuerdo al sexo, morfotipos y condición fisiológica al final del cultivo.....	52
Tabla 4.5. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos sobre las diferentes comunidades del fitoplancton.....	54
Tabla 4.6. Evolución de la abundancia del fitoplancton en los diferentes tratamientos en las colectas realizadas.....	55
Tabla 4.7. Evolución de la abundancia del zooplancton en los diferentes tratamientos en las colectas realizadas.....	58
Tabla 4.8. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos sobre las diferentes comunidades del zooplancton.....	60
Tabla 4.9. Evolución de la abundancia del fitobentos en los sistemas tradicionales en las colectas realizadas.....	62
Tabla 4.11. Evolución de la abundancia del fitoperifiton en los tratamientos con sustratos en las colectas realizadas.....	65
Tabla 4.12. Comparación de las diferentes comunidades del fitoperifiton entre los tratamientos con sustratos.....	66

Tabla 4.13. Evolución de la abundancia del zooperifiton en los tratamientos con sustrato en las colectas realizadas.....	67
Tabla 4.14. Comparación de las diferentes comunidades del zooperifiton entre los tratamientos con sustratos.....	68
Tabla 4.15. Análisis proximal del biofloc en los tratamientos con tecnología de bioflocs.....	69
Tabla 4.16. Análisis proximal de los camarones al final del cultivo.....	71

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Concentración de amonio no ionizado (mg/L) de acuerdo a pH y T° en los diferentes tratamientos.....	94
ANEXO 2. Correlación de Pearson entre las variables de: peso, supervivencia, productividad, factor de conversión alimenticia (FCR), tasa de crecimiento (TC), tasa de crecimiento específica (TCE).....	95
ANEXO 3. Formación y consumo de perifiton en el tratamiento ST/S.....	96
ANEXO 4. Microalgas encontradas en fitoplancton, fitobentos y fitoperifiton.....	97
ANEXO 5. Lista de microalgas registradas en la columna de agua, sedimento y sustrato en los diferentes tratamientos.....	98
ANEXO 6. Densidad media de fitoplancton, fitobentos y fitoperifiton de los muestreos realizados durante los 64 días de experimentación en los diferentes tratamientos.....	99
ANEXO 7. Microorganismos encontrados en zooplancton y zooperifiton.....	100
ANEXO 8. Consumo de perifiton en sistemas con bioflocs.....	101

RESUMEN

Se evaluó el desempeño productivo, calidad de agua, alimento natural y composición proximal del camarón gigante de Malasia (*Macrobrachium rosenbergii*) en dos tipos de sistemas: tradicional y con tecnología de bioflocs (BFT), con y sin sustratos artificiales (mallas de polietileno) para el engorde de esta especie en altas densidades. De esta manera, el experimento consistió en 4 tratamientos en triplicado: sistema tradicional (ST), sistema tradicional con sustrato (ST/S), sistema con bioflocs (BFT) y sistema con bioflocs y sustrato (BFT/S). Se montaron 12 unidades experimentales (tanques de 800 L) en donde se cultivaron 41 camarones/m² (4.13 g) durante 64 días. Todos los parámetros físico-químicos se mantuvieron dentro del rango adecuado, la presencia de sustratos en ambos sistemas mejoró la calidad de agua al disminuir significativamente la concentración de NAT, N-NO₂ y N-NO₃. Los análisis de varianza y Tukey ($p < 0,05$) demostraron que el tipo de sistema influyó en el crecimiento de los camarones siendo mayor en los tratamientos ST y ST/S (11.61 ± 0.88 g; 11.43 ± 0.18 g). Por otro lado, la supervivencia fue influenciada por el uso de sustratos y BFT, siendo superior en sistemas con BFT/S ($96.75 \pm 3.73\%$). El tipo de sistema no afectó en la abundancia de microalgas, pero la presencia de sustratos posibilitó la formación del fitoperifiton. Las cianobacterias predominaron en el fitoplancton y fitoperifiton de todos los tratamientos, mientras que en el fitobentos predominaron las diatomeas. El tipo de sistema no influyó al zooperifiton, pero sí al zooplancton siendo superior en los sistemas con BFT dado por una mayor abundancia de protozoos y rotíferos. La composición proximal de los bioflocs en BFT/S fue mejor, sugiriendo que su consumo contribuiría a un mejor perfil nutricional del camarón así como a una mejor supervivencia.

Palabras clave: Camarón gigante de Malasia, bioflocs, sustratos, perifiton, crecimiento, supervivencia.

ABSTRACT

Performance, water quality, natural food and proximate composition of Giant Malaysian prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) were evaluated in two types of rearing systems: traditional and with bioflocs technology (BFT), with and without artificial substrates (polyethylene mesh) for grow-out of this species in high densities. The experiment consisted in four treatments by triplicate: traditional system (ST), traditional system with substrates (ST/S), bioflocs system (BFT) and bioflocs system with substrates (BFT/S). The experiment was conducted in 12 tanks of 800 L capacity where 41 prawns/m² (4.13 g) were cultured for 64 days. All physicochemical parameters were maintained within the proper range, the presence of substrates in both types of systems improved water quality when decreasing significantly the TAN, NO₂-N and NO₃-N concentration. Analysis of variance and Tukey ($p < 0.05$) showed that the type of system influenced on prawn growth being higher in ST and ST/S treatments (11.61 ± 0.88 g, 11.43 ± 0.18 g). On the other hand, survival was influenced by substrates and BFT, being superior in BFT/S treatment ($96.75 \pm 3.73\%$). The type of system didn't affect microalgae abundance, but the presence of substrates allowed phytoperiphyton development. Cyanobacteria predominated in phytoplankton and phytoperiphyton of all treatments, while diatoms in phytobenthos. The type of system didn't influence zooperiphyton, but on zooplankton due to a greater abundance of protozoans and rotifers. Proximal composition of bioflocs was better at BFT/S, suggesting that its consumption would contribute to a better nutritional prawn profile as well as a better survival.

Keywords: Giant Malaysian prawn, bioflocs, substrates, periphyton, growth, survival.

I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura constituye una de las principales actividades con mayor tasa de crecimiento en el sector de producción de alimentos debido a la creciente demanda por productos hidrobiológicos (FAO, 2012). De esta manera, se espera que para el 2020 la acuicultura aporte con más del 50% de pescado producido a nivel mundial (FAO, 2012).

Dentro de la actividad acuícola destaca la carcinicultura, la cual es considerablemente importante por su volumen de producción y más aún por su valor. Hasta el año 2012, el cultivo de crustáceos abarcó el 9.7% de la producción acuícola total mundial pero el 22.4% en valor (FAO, 2014). La mayoría de especies cultivadas en escala comercial son marinas, sin embargo, dentro de las dulceacuícolas destacan: *Macrobrachium rosenbergii*, *Macrobrachium nipponense* y *Macrobrachium malcolmsonii*, siendo la primera especie la más producida a nivel mundial (FAO, 2009). Para el año 2007, la producción de *M. rosenbergii*, mejor conocido como el camarón gigante de Malasia, alcanzó las 221 174 t con un valor total de USD 452 millones, siendo los principales países productores: China (56.3%), Tailandia (12.5%), India (12.3%), Taiwan (4.5%) y Vietnam (3.6%) (FAO, 2009). A nivel nacional, la producción de *M. rosenbergii* aún es relativamente baja obteniéndose 77.6 t para el año 2014 (PRODUCE, 2016). Sin embargo, dado el creciente interés por su cultivo, se espera el incremento de su producción.

Los sistemas de cultivo tradicionalmente utilizados para el engorde de *M. rosenbergii* son estanques de tierra. Si bien la construcción y manejo de estos sistemas es más barata y simple respecto a otros sistemas de cultivo más sofisticados (Muir & Lombardi, 2010), se requieren de extensas áreas y abundante recurso hídrico de buena calidad, que hoy en día son recursos bastante limitados como para poder continuar con el crecimiento de la acuicultura. Una posible solución ante esta problemática es el incremento de las densidades de cultivo para el ahorro de agua y espacio. No obstante, la intensificación de esta especie suele ser complicada debido a que posee un comportamiento territorial que afecta el crecimiento y la supervivencia (Valenti *et al.*, 2010b). Además, el incremento de las

densidades de cultivo contamina más rápidamente el agua, sugiriendo una mayor tasa de recambio y uso de este recurso, incrementando en algunos casos los costos de bombeo y el riesgo de introducir patógenos o compuestos tóxicos que puedan perjudicar la salud de los camarones (Hargreaves, 2013). De esta manera, existe una actual corriente por desarrollar una acuicultura sostenible, en donde se puedan utilizar nuevas técnicas de cultivo que mejoren la productividad pero que también permitan hacer un uso más eficiente de los recursos, que disminuyan y prevengan la contaminación del ambiente de cultivo y ecosistemas adyacentes.

Recientemente, el uso de la tecnología de bioflocs (BFT) ha demostrado ser una buena alternativa para incrementar las densidades de cultivo. Mediante el manejo de la relación de C/N, esta técnica permite la formación de agregados microbianos que mantienen la calidad de agua utilizando el exceso de nutrientes disueltos en el agua, permitiendo un significativo ahorro en su consumo. Adicionalmente, estos microorganismos pueden ser aprovechados como alimento natural para los animales en cultivo (Becerra-Dórame *et al.*, 2012).

Son diversas las especies que están siendo cultivadas con BFT, sin embargo, a nivel comercial son cultivados principalmente el langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*) y la tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Crab *et al.*, 2009). *M. rosenbergii* es una especie que posee un gran potencial para ser cultivada en BFT debido a que posee un hábito omnívoro y detritívoro, prefiriendo alimentarse de organismos vivos o descompuestos (Correia, 1998, Pérez-Fuentes *et al.*, 2013). Sin embargo, aún son muy pocas las experiencias con esta tecnología, siendo la mayoría de veces evaluada en etapa de pre-cría con muy buenos resultados (Prajith, 2011; Pérez-Fuentes *et al.*, 2013; Haque *et al.*, 2013).

Por otro lado, la implementación de substratos artificiales también ha demostrado posibilitar el incremento de las densidades de cultivo de *M. rosenbergii*. El uso de substratos provee mayor área y refugios, logrando disminuir los problemas de territorialidad, muda y canibalismo así como los niveles de estrés que se presentan por falta de espacio en cultivos intensivos (Valenti *et al.*, 2002). Además, la formación del perifiton en los substratos mejora la calidad de agua y también sirve como fuente de alimento natural. Actualmente el uso de substratos artificiales es generalmente empleado en la etapa

de pre-cría y son pocas las experiencias en el engorde de *M. rosenbergii*, más aún con BFT.

De esta manera, la presente investigación tuvo como objetivo estudiar la influencia del uso de substratos artificiales y sistemas con BFT sobre el desempeño productivo, calidad de agua, composición del alimento natural y composición proximal de bioflocs y camarones; con el propósito de contribuir con el avance de nuevas técnicas que permitan innovar el cultivo de *M. rosenbergii* y obtener una mejor productividad en la etapa de engorde.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Características generales de la especie

La distribución natural de *Macrobrachium rosenbergii* ocurre desde Pakistán hasta el sudeste de Vietnam, a través del sudeste de Asia y de sur a noroeste de Australia, Papúa Nueva Guinea y algunas islas del Océano Índico y Pacífico (Valenti, 2002). Sin embargo, se lo puede encontrar en otras zonas debido a que es una especie de importancia comercial que ha sido introducida en varios países (Nhan, 2009). De acuerdo con Mather & de Bruyn (2003) se han descrito tres razas: una del oriente, otra del occidente y la australiana, las cuales se han identificado como poblaciones genéticamente diferentes.

La caracterización de la actividad enzimática sugiere que esta especie posee un hábito alimenticio omnívoro que consiste en una variedad de plantas y animales. De acuerdo con Schroeder (1983) en un análisis de isótopos de carbón estables, se encontró que la dieta de este camarón consistía en quironómidos, materia orgánica y microalgas. Por otro lado, Correia *et al.* (2002) encontraron que el 70% de los estómagos analizados contenían restos de plantas y arena, el 28.2% contenían microalgas, el 57% materia orgánica, el 25% macroalgas, el 47.2% restos de insectos y el 19.1% restos de moluscos. Su alimento es localizado mediante la visión, tacto, sabor y principalmente el olor gracias a las células quimiorreceptoras de las antenas (Tidwell *et al.*, 2002).

La especie *M. rosenbergii* vive en ambientes tropicales de agua dulce influenciados por áreas adyacentes a aguas salobres y a menudo se le encuentra en condiciones extremadamente turbias (Valenti, 2002). Las hembras grávidas migran hacia los estuarios para poder desovar y cargan los huevos hasta por 3 semanas, durante las cuales gradualmente van cambiando a una coloración naranja-marrón hasta que finalmente adquieren un color gris. Luego de dos o tres días, las larvas eclosionan como zoea en ambientes estuarinos y atraviesan por 11 estadios larvales antes de metamorfosear a post-larva, luego migran hacia cuerpos de agua dulce. Las larvas poseen una coloración

traslúcida, revelando todos sus órganos, cuando son juveniles se pueden observar algunas rayas azuladas, y de adultos su cuerpo es de un color verdoso a pardo grisáceo, algunas veces más azulado (más oscuro en los individuos más grandes) (Brown *et al.*, 2010).

Esta especie presenta dimorfismo sexual, los machos maduros son más grandes pudiendo alcanzar una longitud total de 320 mm, mientras que las hembras unos 250 mm (Brown *et al.*, 2010). Los machos presentan un morfotipo distintivo que los clasifica jerárquicamente en tres tipos: 1) los de patas azules (PA), de mayor tamaño, quelas grandes, espinosas y azuladas; son los más activos sexualmente, dominantes, muy territoriales y conforman el 10% de la población masculina; 2) los de patas naranjas (PN) con las quelas más pequeñas, menos espinosas y de un color naranja claro; son sub-dominantes, sexualmente incompetentes y conforman el 40%; y (3) los machos pequeños (MP), con las quelas del mismo color que el cuerpo, comportamiento sumiso y conforman el resto de la población. Por otro lado, las hembras poseen el cefalotórax más pequeño, las quelas más finas y una especie de cámara de incubación debajo del abdomen (formada por la prolongación de la pleura abdominal y los pleópodos) para los huevos hasta que estos eclosionen. Las hembras también pueden ser clasificadas en 4 tipos: 1) hembras vírgenes (VG), maduras (MA), ovadas (OV) y desovadas (DO) (Correia *et al.*, 2003).

La especie *M. rosenbergii*, al igual que otros crustáceos, renuevan su exoesqueleto a medida que crecen y aumentan de tamaño en un proceso llamado muda o ecdisis (Mauchline, 1977; Hartnoll, 1982). En general, su crecimiento depende de varios factores, incluyendo la edad, sexo, tasa y frecuencia de la alimentación, calidad del alimento, protocolos de control de enfermedades, densidad de carga, factores ambientales, sociales y sobretodo genéticos (Sandifer & Theodore, 1985; Prasuna Devi *et al.*, 2015).

2.2. Etapas de cultivo

El cultivo del camarón gigante de Malasia envuelve tres fases distintas: larvicultura, pre-cría y engorde, que puede ser dividida en dos fases (New *et al.*, 2010).

La larvicultura comprende la obtención y el desarrollo de las larvas en agua salobre (12 - 16 g/L) hasta completar la metamorfosis en post-larvas, las cuales ya pueden ser cultivadas en agua dulce. Las post-larvas pueden ser sembradas directamente en los estanques de engorde o puede optarse por una fase intermediaria llamada pre-cría, en donde son cultivadas hasta llegar a estadio juvenil de 2 - 3 g (Coyle *et al.*, 2010). Las ventajas de realizar esta etapa es el incremento de la supervivencia en los estanques de engorde ya que los juveniles son más resistentes a la depredación, canibalismo, enfermedades y las fluctuaciones ambientales que las post-larvas (New, 2002).

En el engorde, los juveniles son introducidos en estanques de agua dulce hasta adquirir el tamaño adecuado para su comercialización (Valenti, 2002). Los métodos de crianza comprenden diversas combinaciones de sistemas, incluyendo el "continuo" (estanques operados indefinidamente, con cosecha selectiva y resiembra regulares) y el "por tandas" (una sola siembra, una sola cosecha). La mayoría de los sistemas involucran monocultivo, pero el policultivo con carpas o tilapias también es utilizado en algunas granjas. La integración del cultivo de *M. rosenbergii* y cultivos agrícolas también ocurre (típicamente en Vietnam) (New, 2004).

En la Tabla 2.1, se puede observar una descripción detallada de cada una de las fases en el cultivo de *M. rosenbergii*.

Tabla 2.1. Fases y especificaciones del cultivo de *M. rosenbergii*.

Fase	Duración (días)	Densidad de siembra	Descripción	Tipo de sistema utilizado
Larvicultura	21 - 35	40 - 100 larvas/L	Huevos eclosionan como zoea y atraviesan por 11 estadios de zoea morfológicamente diferentes.	Sistemas de flujo abierto o sistemas de recirculación acuícola (SRA). Tanques pueden ser ovalados, cilíndricos o rectangulares, de cemento o fibra de vidrio (1 a 10 m ³).
Pre-cría	60 - 90	200 - 600 PL/m ²	Las post-larvas se colocan en los estanques hasta llegar a ser juveniles de 2- 3 g.	El cultivo puede realizarse en tanques o estanques de tierra, protegidos o no en un invernadero; también pueden utilizarse jaulas que son instaladas en los propios estanques de engorde. Tamaño varía entre 10-50 m ³ .
Engorde I	60 - 90	20 - 30 camarones /m ²	Los juveniles son transferidos a los estanques hasta llegar a un peso de 9 - 15 g, los camarones con este peso son trasladados a estanques de Engorde II para dar oportunidad a aquellos que no crecieron. Los estanques son drenados para la selección y nuevamente son llenados.	Dado que los sistemas <i>semi-intensivos</i> son los más utilizados, se emplean estanques de tierra.
Engorde II	4-5 meses	4-5 camarones /m ²	Los adultos se mantienen hasta llegar al peso de cosecha (20 - 60 g) y los estanques sondrenados por completo.	Estanques de tierra

FUENTE: Valenti *et al.* (2010b)

2.3. Sistemas de cultivo

La acuicultura es comúnmente clasificada de acuerdo al nivel de tecnología utilizada, particularmente alimento, clasificando los sistemas de cultivo en: extensivos, semi-intensivos e intensivos. Aunque la clasificación esté basada en el alimento, el incremento de la intensificación también está correlacionada con la densidad de siembra, capital y manejo del sistema de cultivo.

Los sistemas extensivos se realizan en estanques de tierra, jaulas colocadas en cuerpos de agua naturales, canales de irrigación, reservorios o cultivos de arroz. La densidad de siembra es de 1 - 4 PL o juveniles capturados/m². La intervención de los acuicultores es muy limitada puesto a que hay poco o nulo control de la calidad de agua, crecimiento, mortalidad, alimentación y depredadores. Algunas veces se utilizan fertilizantes orgánicos para fomentar el desarrollo del alimento natural como plancton y bentos. Por otro lado, los sistemas semi-intensivos son generalmente estanques de tierra, estructuras usualmente baratas y simples de construir y operar. Se siembra a una densidad menor a 20 PL o juveniles de tres meses/m², existe un mayor control de los depredadores y competidores, se monitorea la calidad del agua, salud y crecimiento de los camarones, y se proporciona una fertilización y alimentación con ración (son los sistemas más utilizados para la etapa de engorde). En el caso de los sistemas intensivos, se emplean pequeños estanques de tierra o de concreto (>0.2 ha), o también jaulas de 2 - 6 m². Se cultiva a una densidad mayor de 20/m², en China cultivan hasta 120 PL o 45 juveniles/m² a pesar de los efectos sobre el crecimiento, debido a que en el mercado chino los camarones se comercializan a partir de los 9 g. En los sistemas para el cultivo intensivo, se realiza una mayor inversión debido a que se utiliza alimento formulado en mayor proporción, los parámetros ambientales y productivos son más estrictamente controlados y el costo de construcción y mantenimiento es más elevado, no obstante la productividad es mayor respecto a los demás sistemas de cultivo (Tabla 2.2) (Valenti *et al.*, 2010b).

La tecnología para la producción de camarones de agua dulce viene presentando un rápido y significativo desarrollo, lo que puede generar índices de productividad muy elevados. Si bien es más complicado llevar a cabo un cultivo intensivo exitoso, se recomiendan emplear ciertas estrategias tales como: colocar aireación artificial, controlar la calidad del agua cuidadosamente (como mínimo transparencia del agua, concentración de oxígeno disuelto,

pH y amonio), colocar substratos artificiales para incrementar el área de cultivo y periódicamente realizar una selección de los camarones dominantes quienes tienen un efecto negativo en el crecimiento de los demás organismos (Valenti *et al.*, 2010b).

Tabla 2.2. Productividad obtenida de acuerdo a los diferentes sistemas de cultivo para el engorde de *M. rosenbergii*.

Autores	Extensivo	Semi-intensivo	Intensivo
Valenti <i>et al.</i> , 2010b	<0.5 t/ha/año (50 g/m ²).	0.5 - 5 t/ha/año (50 - 500 g/m ²).	> 5 t/ha/año (>500 g/m ²) con 2 a 3 ciclos por año.
Rodrigues, <i>et al.</i> , 1991	0.2 - 0.4 t/ha/ciclo de cultivo	0.8 - 1.5 t/ha/ciclo de cultivo.	>2 t/ha/ciclo de cultivo
New & Singholka, 1985		1 - 2t/ha/año	
Correia, 1998		1 - 2.5t/ha/año	Hasta 4.5 t/ha/año

2.4. Condiciones de cultivo

Los factores ambientales influyen en la alimentación y crecimiento de *M. rosenbergii*. Los camarones comienzan a estresarse cuando los niveles de oxígeno disuelto están por debajo de 2 mg/L (Rogers & Fast, 1988) y ocurre una mortalidad masiva cuando el pH es mayor a 9.5, esto generalmente ocurre en estanques de agua verde ricas en alimento natural (Strauss *et al.*, 1991; Hummel, 1986). Sin embargo, al ser una especie tropical, el parámetro más crítico es la temperatura, la cual debe ser relativamente elevada. En general, a temperaturas inferiores a 12°C o por encima de 42°C, los camarones pueden morir rápidamente (New & Valenti, 2000). Según Zimmermann (1998) camarones de agua dulce dejan de crecer y no pueden sobrevivir cuando las temperaturas están por debajo de 19°C o por encima de 34°C durante largos periodos. Nelson *et al.* (1977) estudiaron las tasas metabólicas de juveniles de *M. rosenbergii* y encontraron que a una salinidad cero, la tasa metabólica fue mayor entre 27 - 34°C que entre 20 - 27°C, demostrando que el aumento de temperatura conlleva a un incremento del consumo de oxígeno y excreción nitrogenada (Chen & Kou, 1996).

En los estanques de engorde es esencial mantener la calidad del agua durante todo el periodo de cultivo; sin embargo, existe una acumulación gradual de la materia orgánica en el lecho del estanque dada por los nutrientes de los alimentos, fertilizantes y organismos muertos (Singh, 2011). Este sedimento depositado se descompone para liberar nutrientes en el agua, lo cual estimula la producción de fitoplancton que puede ser beneficiosa nutricionalmente. No obstante, la deposición de sedimentos excesiva y la floración de microalgas no deseadas deteriora la calidad del agua en el estanque y pueden conducir al estrés, crecimiento lento, susceptibilidad a enfermedades, mortalidad y consecuentemente en pérdidas de la producción (New *et al.*, 2010). Por lo tanto, para mantener la calidad de agua adecuada es necesario realizar un seguimiento y mantenimiento periódico, así como tener unas buenas prácticas de alimentación.

New & Valenti (2000) mencionan que generalmente los rangos óptimos para la mayoría de los parámetros de calidad de agua no siempre se logran durante los cultivos de engorde, es por ello que a partir de datos compilados, se sugiere utilizar los rangos presentados en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3. Parámetros físico-químicos para el cultivo de *M. rosenbergii* en etapa de engorde.

Parámetros	Mínimo	Máximo	Óptimo
Alcalinidad	20	300	50-180
Amonio no ionizado			<0.3
Oxígeno disuelto	3	7	>5
Dureza	40	100	
Nitrato		160	<75
Nitrito			<1
Salinidad			<10
pH	7	8.5	
Temperatura	25	32	

FUENTE: Zimmermann (1998), Hargreaves (2013) y CABI (2016).

2.5. Requerimientos nutricionales

La mayor parte de la información que se tiene sobre requerimientos nutricionales de *M. rosenbergii* no ha sido aplicada en la elaboración de dietas comerciales para la etapa de engorde (D'Abramo & New, 2010). Esta condición explica en parte el motivo por el que esta especie es aún cultivada en estanques de tierra y de manera semi-intensiva. Las estrategias de manejo que se emplean permiten el desarrollo del alimento natural, el cual contribuye sustancialmente a satisfacer los requerimientos nutricionales del camarón. Sin embargo, conforme la biomasa incrementa, se requieren de fuentes de alimento adicionales para maximizar el crecimiento, por lo que existen algunas raciones comerciales o elaboradas en la propia granja para poder compensar las deficiencias nutricionales y a su vez propiciar el desarrollo del alimento natural (D'Abramo & New, 2010).

De acuerdo a la edad y los requerimientos nutricionales de la especie, en la Tabla 2.4 se detallan los contenidos máximos y mínimos para proteínas, lípidos, cenizas y humedad que deben contener los alimentos formulados tomando como ejemplo lo establecido en el país de Tailandia. En caso sea considerado el alimento natural como la fuente de alimento principal en el sistema de cultivo, también se especifica el contenido proximal del alimento formulado a ser usado como suplemento (D'Abramo & New, 2010).

Tabla 2.4. Especificaciones sobre la composición proximal del alimento formulado para *M. rosenbergii* bajo el control legislativo de Tailandia.

Tipo	Proteínas (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	Humedad (%)
Alimentos completos				
Larvas (4 - 15 días)	>37	>5	<3	<10
Juveniles	>30	>4	<5	<12
Adultos (5 - 12 g)	>25	>3	<6	<12
Camarones grandes	>25	>3	<6	<12
Alimento suplementario	>20	>3	<6	<12

FUENTE: Thongrod (1999), citado por D'Abramo & New (2010).

Una buena nutrición debe ir acompañada de una correcta administración de la ración. La cantidad de alimento ofrecida es regulada de acuerdo al peso total de todos los camarones cultivados así como a la observación diaria del consumo de alimento (New, 2002). La

Tabla 2.5 es una referencia que ha sido utilizada en este estudio para poder determinar la cantidad de alimento formulado que debe ser suministrado de acuerdo al peso de los organismos.

Tabla 2.5. Tasa de alimentación y número de raciones al día de acuerdo al estadio de *M. rosenbergii*.

Peso (g)	Tasa de alimentación (%)	Nº Ración/día
PL	20-50	4-6
2-3	10-15	4
4-adulto	5	2-3

FUENTE: Nandlal & Pickering (2005) citado por Singh (2011).

2.6. Desempeño productivo de la especie en altas densidades

2.6.1. Crecimiento

La densidad tiene un gran efecto en el crecimiento de *M. rosenbergii* (Valenti, 1989). El efecto de la densidad poblacional se manifiesta a través de la competencia y otras formas de interacción entre los animales. Cuando incrementan las densidades de cultivo hay una mayor competencia por recursos tales como espacio y alimento; y cuando uno de ellos se torna insuficiente se convierte en un factor limitante. De esta manera, el crecimiento se reduce no sólo por la falta de estos recursos, sino también por el gasto energético ocasionado por el estrés de la competencia (Valenti *et al.*, 2010b).

La especie *M. rosenbergii* es bastante territorial y exhibe un comportamiento social y agresivo (Peebles, 1979; Karplus *et al.*, 1992). De acuerdo con Karplus (2005), los camarones dominantes alejan a los individuos menos agresivos, incluso se ha observado que pueden quitarles la comida de la boca. El mayor gasto energético debido a la disputa y defensa por el espacio que se manifiesta en altas densidades puede reducir la tasa de crecimiento. Aunque esta competencia está usualmente asociada a una escasez de recursos, tanto la dominancia como la territorialidad pueden limitar el acceso a los recursos disponibles. Por lo tanto, el estrés es intenso aún en ambientes con abundante alimento (Krebs, 1972).

Los machos de la especie *M. rosenbergii* exhiben un crecimiento heterogéneo debido a los diferentes morfotipos, mientras que las hembras crecen a una velocidad uniforme. Dado el comportamiento dominante de los machos patas azules (PA), ellos suelen ser los más agresivos. Este comportamiento es descrito como un mecanismo que controla el crecimiento de los demás machos. La tasa de crecimiento de los machos pequeños (MP) se inhibe por la presencia de machos PA; en su ausencia los MP metamorfosean en machos de patas naranjas (PN) y finalmente en machos PA. Es por ello que se recomienda la continua selección de los machos PA para permitir que los demás camarones continúen creciendo y obtener una mejor productividad (New, 2004). Dado este comportamiento agresivo entre machos, también se recomienda que de realizarse un cultivo intensivo, se opte por un monocultivo de hembras ya que estas pueden tolerar mejor las altas densidades y se obtienen pesos más homogéneos.

2.6.2. Supervivencia

Los efectos de las altas densidades sobre la supervivencia son menores que sobre el crecimiento, por lo que normalmente se obtendrá una gran producción de pequeños camarones en cultivos con densidades elevadas (Valenti, 1989). No obstante, los efectos negativos en estanques sobrepoblados sobre la supervivencia se deben al incremento del canibalismo, competencia y deterioro de la calidad del agua (Peebles, 1978; Valenti, 1990; New, 2002).

El canibalismo generalmente ocurre cuando los camarones se encuentran mudando o cuando su exoesqueleto aún es suave, ya que en esta etapa son más vulnerables (en el proceso osmótico liberan aminoácidos de cadena corta que son captados como atractivos por los otros camarones en etapa de intermuda) (Peebles, 1978). Cuando aumentan las densidades de cultivo, se disminuyen los refugios para los camarones que se encuentran mudando resultando más vulnerables al canibalismo. La competencia y disputas por espacio y alimento también pueden desencadenar este comportamiento. Las mortalidades incrementan cuando los agresores son de mayor tamaño que sus víctimas, aunque también camarones del mismo tamaño pueden atacar. Por otro lado, el rápido deterioro de la calidad de agua, producto de las altas densidades también pueden repercutir en la supervivencia de los camarones incluso pueden surgir cierto tipo de enfermedades.

Si bien existen algunas dificultades para poder incrementar las densidades de cultivo en la etapa de engorde de *M. rosenbergii*, en los últimos diez años la tecnología de cultivo ha ido mejorando significativamente (Valenti & Tidwell, 2006). En efecto, su cultivo está volviéndose cada vez más intensivo (con productividades entre 5 - 8t/ha/año). Existe un gran potencial para mejorar sustancialmente la productividad mediante el uso combinado de aireadores, sustratos artificiales y la clasificación por tallas de juveniles antes de la siembra en los estanques de engorde. No obstante, aún se requieren de mayores esfuerzos para desarrollar técnicas de cultivo que nos permitan mejorar su productividad.

2.7. Uso de sustratos

Se han utilizado diferentes tipos de sustratos naturales y artificiales que han permitido incrementar las densidades de cultivo y disminuir los efectos del canibalismo. Inicialmente se utilizaban plantas acuáticas, hojas de palma, ramas y troncos de bambú para disminuir la agresividad, proporcionar refugio a los camarones que estén mudando e incrementar las tasas de supervivencia (Ling, 1969). Sin embargo, debido a que los sustratos naturales parecían imprácticos para sistemas intensivos debido a que rápidamente se deterioran y presentan dificultades en el manejo, Smith & Sandifer (1975) comenzaron a evaluar diferentes configuraciones de hábitats artificiales utilizando pirámides de tubos, platos cóncavos de plástico y hábitats en capas colocados vertical u horizontalmente. Dado que los camarones exhibían una preferencia por los hábitats en capas, particularmente por sus bordes, se optó por utilizar mallas de polietileno que maximizan ese “efecto de borde” (Smith & Sandifer, 1975). Las mallas son suspendidas a 0.1 m o más, con palos de madera o de aluminio o con tubos de PVC, y son colocados de preferencia verticalmente para mejorar el flujo de agua, sifoneo de sólidos y para que los camarones tengan mejor acceso al fondo en la búsqueda de alimento o detritus (Sampaio, 1995; Tidwell *et al.*, 2005; Coyle *et al.*, 2010).

Los refugios como conchas, ladrillos y tubos de PVC también han sido utilizados junto con las mallas debido a que han sido muy eficientes para la protección de camarones que recientemente han mudado. Además de ser atractivos para los camarones, son de bajo costo, fáciles de instalar y remover (Sandifer & Smith, 1985). De acuerdo con Karplus *et al.* (1992) los refugios son generalmente usados por machos pequeños cuando están bajo la presencia de machos patas azules y la densidad de cultivo es elevada.

2.7.1. Control de la calidad de agua

Son varios estudios en los cuales se ha evaluado el efecto positivo del uso de sustratos en el reciclaje de nutrientes y en el control de la calidad del agua del cultivo de algunas especies (Pandey *et al.*, 2014).

La disminución del amonio mediante la nitrificación, es realizada por las bacterias oxidantes del amonio (BOA) y las bacterias oxidantes del nitrito (BON), quienes son de vital importancia en el manejo de la calidad del agua al actuar como un biofiltro (Fitch *et al.*, 1998; Nogueira *et al.*, 1998). Si bien estos microorganismos pueden vivir libremente en el agua, ellos prefieren adherirse a un soporte fijo y permanecer inmóviles, por lo que la adición de un sustrato permite el mayor crecimiento y colonización de estas bacterias (Timmons *et al.*, 2001). De esta manera, son varias las investigaciones que han demostrado que la presencia de bacterias nitrificantes en el perifiton disminuye la concentración de amonio y nitrito en el agua (Pandey *et al.*, 2014; Langis *et al.*, 1988; Ramesh *et al.*, 1999).

Por otro lado, las microalgas presentes en el perifiton también pueden reducir la concentración de nutrientes como los compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) y fósforo para la producción de nueva biomasa (Ziemann *et al.*, 1992, Brown *et al.*, 2009). Además, la formación del perifiton ayuda en la disminución de la turbidez al atrapar materia orgánica en la columna de agua (van Dam *et al.*, 2002). Es así como la implementación de sustratos consigue mantener la calidad de agua y disminuir los recambios, resultando en un mayor ahorro de este recurso. Adicionalmente, la disminución y aprovechamiento de los nutrientes evitan el riesgo de la introducción de patógenos aportando con el bienestar de los organismos cultivados (Bratvold & Browdy, 2001).

2.7.2. Mejoramiento del desempeño productivo

Smith & Sandifer (1975) y Coyle (2003) han demostrado que el uso de mallas de polietileno es muy útil para poder mejorar la supervivencia, productividad y conversión alimenticia de *M. rosenbergii*. Su implementación permite el incremento del área superficial así como la formación del perifiton que puede contribuir como alimento natural mejorando evidentemente el desempeño productivo (Schweitzer *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014).

El perifiton que se forma en la superficie del sustrato es un alimento natural de alta calidad, el cual está conformado por una variedad de microorganismos, entre ellos: microalgas, bacterias, protozoarios, nemátodos e incluso zooplancton. La conformación de estos organismos depende de las propiedades de la superficie a ser colonizada así como de las condiciones físico-químicas del ambiente acuático (Pandey *et al.*, 2014). Nutricionalmente, poseen macronutrientes, estimuladores inmunológicos, promotores de crecimiento, compuestos bioactivos, probióticos y estimulantes dietéticos que mejoran la supervivencia y crecimiento (Supamattaya *et al.*, 2005; Kuhn *et al.*, 2010; Ju *et al.*, 2008b; Xu & Pan, 2012). Su composición nutricional es bastante interesante, esta varía entre 23 - 30% de proteína, 2 - 9% de lípidos, 25 - 28% de extracto libre de nitrógeno (NFE) y 16 - 42% de ceniza. De esta manera, se menciona que el perifiton puede complementar el alimento formulado que puede carecer de algunos nutrientes esenciales (Azim & Wahab, 2005; Thompson *et al.*, 2002; van Dam *et al.*, 2002). Adicionalmente, ayudan a mejorar la actividad enzimática y por tanto la asimilación de nutrientes propiciando una condición fisiológica favorable (Abreu *et al.*, 2007).

El perifiton, además de ser muy bueno nutricionalmente, ha resultado tener un papel importante en la resistencia y respuesta inmunológica del organismo. En langostinos (*Litopenaeus vannamei*), se ha comprobado que el perifiton estimula la actividad de los factores inmunológicos específicos tales como la fenoloxidasa (PO) superoxidasa dismutasa (SOD), peroxidasa (POD), actividad antibacteriana (Ua) lisozima (UI), mejorando su salud y previniendo enfermedades y epidemias (Zhang *et al.*, 2010).

El patrón de consumo y la eficiencia de alimentación del perifiton depende de la habilidad detritívora de la especie (Asaduzzaman *et al.*, 2010). Algunos estudios reportan que el perifiton adherido en los sustratos puede ser usado como un recurso de alimento para *M. rosenbergii*, pudiendo incrementar su producción en un 20% y su peso promedio en un 23% logrando mejorar el crecimiento y FCA (Tidwell *et al.*, 1998).

En cultivos intensivos de *M. rosenbergii*, la supervivencia suele ser entre 50 - 60% (Son *et al.*, 2005), sin embargo, mediante el uso de sustratos artificiales se han obtenido mejores resultados (80 - 90%) dado que se disminuye la competencia por el territorio e incluso hay una mayor disponibilidad de alimento natural y mejoramiento de la calidad de agua dada por los microorganismos que conforman el perifiton (Tidwell & Bratvold, 2005). El

mejoramiento de la productividad también es significativo, el uso de sustratos ha posibilitado la obtención de 2 600 kg/ha en 3 - 5 meses, con peso medio superior a 40 g. Sumado a ello, de ser utilizado el tamizado (separación de camarones dominantes) se han logrado 3 000 kg/ha con peso promedio de 52 g en 3.5 meses (Valenti, 2002).

2.8. Tecnología de bioflocs

La tecnología de bioflocs (*Bioflocs Technology* - BFT) es una técnica de cultivo ambientalmente amigable utilizada en sistemas de cero o mínimo recambio de agua (Avnimelech, 2009). Esta tecnología se introdujo como consecuencia de un uso más restringido del recurso hídrico debido al incremento de su costo y regulación ambiental así como para proveer una mayor bioseguridad y minimizar el ingreso de enfermedades en los cultivos (Hargreaves, 2013).

Los bioflocs en sí, son un conglomerado de bacterias, algas, protozoos, micro crustáceos entre otros, mezclado con detritus y partículas de materia orgánica muerta que se forman a partir de la acumulación y degradación de los residuos orgánicos (Emerenciano *et al.*, 2013). Las principales funciones de los bioflocs son: 1) mantener la calidad del agua mediante la nitrificación o asimilación del amonio realizada por la comunidad microbiana y 2) contribuir con la nutrición de los animales cultivados, mejorando aspectos del rendimiento productivo (Crab *et al.*, 2012). De esta manera, los procesos microbianos sirven como sistemas de tratamiento hídrico, ya que reemplazan los continuos recambios de agua de un sistema convencional o el uso de un componente externo como los biofiltros y por otro lado, pueden ser aprovechados como alimento natural para los animales en cultivo (Avnimelech, 2009).

2.8.1. Control y manejo de la calidad de agua en sistemas con BFT

Amonio: El principal objetivo del manejo de la calidad de agua es mantener el amonio en bajas concentraciones debido a que es un compuesto altamente tóxico para los organismos acuáticos (Hargreaves, 2013). El control del amonio en los sistemas BFT es realizado principalmente mediante asimilación de bacterias heterótrofas, nitrificación y absorción de microalgas. En el caso de las microalgas, ellas dependen mayormente de la intensidad lumínica, por lo que existe un límite de la absorción de amonio debido a la sombra que

otorga la presencia de los bioflocs en el agua. De manera similar a las algas, el amonio puede ser inmovilizado en las células de bacterias heterótrofas como proteína. Sin embargo, su crecimiento se encuentra limitado por la disponibilidad de carbono en el medio; es por ello que para estimular su crecimiento se busca manejar una relación balanceada de C/N mayor a 10, que se realiza mediante la suplementación de fuentes de carbono (azúcares, harinas o melaza), incrementando el nivel de carbono o reduciendo el nivel proteico del alimento (Avnimelech, 1999; Hargreaves, 2013). Por otro lado, la nitrificación, como se mencionó anteriormente, es un proceso que involucra la participación de dos tipos de bacterias: las BOA y BON. Como producto de este proceso, se obtiene finalmente el nitrato que se va acumulando en el sistema y debe ser removido mediante la desnitrificación. La nitrificación es un proceso eficiente para la remoción de amonio, no obstante este requiere de mayor tiempo debido a que las bacterias nitrificantes poseen una tasa de crecimiento 10 veces menor que las bacterias heterótrofas (Hargreaves, 2006). Sin embargo, la nitrificación es la responsable de asimilar entre el 25 a 50% del nitrógeno del alimento a largo plazo. Si bien las bacterias heterótrofas son más rápidas, su asimilación es temporal, ya que el amonio es nuevamente liberado cuando las bacterias mueren a menos que estas sean consumidas o se remueva el exceso de sólidos (Hargreaves, 2013).

Sólidos: Dada la nula o escasa renovación de agua en estos sistemas, la formación y acumulación de sólidos (bioflocs) se debe a la adición de carbono orgánico, acumulación de heces, alimento no consumido y consecuente crecimiento de biomasa microbiana (Panjaitan, 2010).

Los sólidos sedimentables (SS) y los sólidos suspendidos totales (SST) son parámetros muy importantes ya que nos permiten controlar la concentración de bioflocs en el sistema. Un exceso de sólidos provoca estrés en los animales, así como una disminución excesiva del oxígeno debido a un aumento de la respiración microbiana (Hargreaves, 2013).

Según Poli *et al.* (2015), la concentración de sólidos debe ser manejada sin comprometer la demanda de oxígeno del sistema ni la funcionalidad del biofloc como biofiltro (al controlar el amonio). Por lo tanto, la concentración de sólidos debe ser lo menor posible para proveer la suficiente biofiltración y disminuir el requerimiento de mayor aireación.

Se considera que una concentración de 200 - 500 mg/L de SST y 25 - 50 mL/L de SS es una concentración adecuada para los sistemas BFT de tilapia, mientras que para langostino sería 100 - 300 mg/L de SST y 10 - 15 mL/L de SS (Hargreaves, 2013). El monitoreo de los SST puede hacerse con ayuda de turbidímetro y los SS usando los conos Imhoff.

Alcalinidad: Según Panjaitan (2010) y Ebeling *et al.* (2006) los niveles de pH tienden a decrecer por incremento de la biomasa bacteriana. Por un lado, las bacterias heterótrofas incrementan la acidez al liberar CO₂ en la incorporación del amonio. Este compuesto, cuando entra en el agua se convierte en ácido carbónico, un ácido débil que se disocia parcialmente en bicarbonato y cationes hidrógeno, estos iones son los causantes del incremento de acidez. Mientras que las bacterias nitrificantes (específicamente las BOA), producen un H⁺ por cada mol de amonio oxidado a NO₂ disminuyendo también el pH (Timmons *et al.*, 2001). Dado que la alcalinidad es la capacidad del agua para *tamponar* o resistir los cambios de pH, se establece que los sistemas BFT deben manejar una alcalinidad entre 120 - 150 mg/L para disminuir las fluctuaciones diarias de pH (Furtado *et al.*, 2011).

Aireación: Según Panjaitan (2010) los sistemas con BFT poseen una alta demanda de oxígeno como consecuencia de la respiración de los microorganismos presentes en los bioflocs y la alta densidad de organismos cultivados, pudiendo alcanzar en el caso de cultivos super-intensivos de langostino o de tilapia hasta 5 - 8 mg/L por hora (Hargreaves, 2013). Es por esta razón que la concentración de oxígeno disuelto debe ser monitoreada constantemente, incluso se recomienda colocar alarmas o sistemas de emergencia para evitar que ocurra alguna catástrofe por falta de oxígeno.

Por otro lado, la aireación también es utilizada para que los sólidos se mantengan suspendidos en la columna de agua, ya que de lo contrario sedimentarían y formarían zonas anaerobias que podrían producir sulfuro de hidrógeno y metano que son compuestos tóxicos para los organismos cultivados (Rode, 2014). Sin embargo, una excesiva turbulencia también podría ser una desventaja para los animales para poder localizar y consumir el alimento, es por ello que los tipos de aireadores utilizados así como su posicionamiento en el sistema aún es tema de investigación (Hargreaves, 2013).

2.8.2. Mejoramiento del desempeño productivo

Los bioflocs son una fuente de alimento natural conformado por diversas comunidades microbianas tales como: bacterias, microalgas, protozoarios, rotíferos, nemátodos, copépodos, etc. La composición y dinámica de estos microorganismos dependerá de las condiciones de cultivo como la salinidad, luz, fuente de carbono utilizada, entre otros, lo que consecuentemente alterará las propiedades nutricionales del biofloc (Ballester *et al.*, 2010; Crab *et al.*, 2010a). Por otro lado, si bien es un suplemento alimenticio disponible las 24h al día que puede ser aprovechado por los animales en cultivo, este consumo también dependerá de diversos factores tales como la especie a ser cultivada, tamaño de los animales, densidad y tamaño del biofloc (Avnimelech, 2009).

Dado el aporte nutricional de los bioflocs (Tabla 2.6), diversos estudios demuestran que es posible reducir la cantidad de ración administrada hasta en un 30% en el caso de langostinos (Panjaitan, 2010) o también incluirlo como ingrediente en la formulación del alimento. Anand *et al.* (2014) evaluó la inclusión de harina de bioflocs en la ración de langostino para reemplazar en cierto grado la harina de soya y de trigo, logrando incluirse hasta en un 8% para no incurrir en problemas de palatabilidad y digestibilidad del alimento.

Tabla 2.6. Datos de proteína y lípidos (%) obtenidos en la composición proximal de los bioflocs de diferentes investigaciones manejando la relación C/N y la fuente de carbono.

Referencias	Relación C/N	Fuente C	Proteína (%)	Lípidos (%)
Liu <i>et al.</i> (2014)	15:1	Almidón de maíz	24	2.5
Xu & Pan (2012)	15:1 20:1	Sacarosa	27.3 31.6	3.7 4.2
Anand <i>et al.</i> (2014)	10:1	Harina de trigo	24.3	3.53
Ballester <i>et al.</i> (2010)	20:1	Melaza	30.4	4.7

Los bioflocs, además de poseer un contenido adecuado de proteínas y lípidos, estos poseen también promotores de crecimiento y compuestos bioactivos tales como carotenoides, clorofilas, fitoesteroles, bromofenoles y amino azúcares (Ju *et al.*, 2008a) que aumentan la

producción de enzimas digestivas y mejoran el estado de salud de los animales cultivados dando lugar a una mejor supervivencia (Xu & Pan, 2012).

Los probióticos son células microbianas viables que poseen un efecto beneficioso en la salud de su hospedero mejorando su equilibrio intestinal a través de la contribución enzimática de la digestión, inhibición de microorganismos patógenos, acciones antimutagénicas y anticarcinogénicas, promotores de crecimiento y mejora de la respuesta inmune (Verschuere *et al.*, 2000). De esta manera, Crab *et al.* (2010b) menciona que la inoculación de *Bacillus* y *Lactobacillus* en los sistemas BFT permiten la formación de bioflocs probióticos que pueden mejorar la tasa de crecimiento y factor de conversión alimenticia.

Experiencias con *Macrobrachium rosenbergii* en cultivo con BFT son muy pocas, sobretodo manejando altas densidades. En la Tabla 2.7, se pueden destacar algunas investigaciones relevantes con esta especie en las que se observa el mejoramiento del desempeño productivo manejando la relación C/N y evaluando en ocasiones la adición de substratos.

Tabla 2.7. Resultados de desempeño productivo de *M. rosenbergii* obtenidos en diferentes investigaciones manejando la relación C/N y substratos.

Referencias	Etapas	Tratamiento	Periodo (días)	Peso Inicial-Final (g)	Densidad (ind./m ²)	Productividad (g/m ²)	Supervivencia (%)	FCA	TCE (%/día)
Asaduzzaman <i>et al.</i> (2009)	Engorde	C/N+ Substratos	120	5-35.2	3	81	76.9	2.05	1.63
		C/N		4.9-37.2		60	54.4	2.37	1.70
Haque <i>et al.</i> (2013)	Pre-cría	Control	122	0.2-8.6	3	12.3	49.57	2.96	2.93
		C/N		0.2-11.3		15.3	45.9	2.63	3.2
		C/N+ Substratos		0.2-13.1		25.3	66.32	2.02	3.32
Pérez-Fuentes <i>et al.</i> (2013)	Pre-cría	Control	180	PL-12.6	37	-	85.4	-	2.74
		BFT		PL-15.2		-	85.31	-	2.27
Prajith (2011)	Pre-cría	Har. Tapioca	120	0.2-4.5	15	40.6	72.7	1.2	-
		Har. Ñame		0.2-6.6		45.8	62.8	1.14	-
		Har. Trigo		0.2-5.1		40.1	67.6	1.25	-
		Har. Arroz		0.2-5.3		43.7	72	1.15	-
		Har. Papa		0.2-5.5		52.7	81.2	0.91	-

FCA= Factor de conversión alimenticia; TCE= Tasa de crecimiento específico.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del experimento

El experimento se realizó en la Estación de Acuicultura Profesor Johei Koike de la Universidad Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), situado en la ciudad Recife, estado de Pernambuco, Brasil, con las coordenadas $8^{\circ}01'05''$ en la latitud Sur, $34^{\circ}56'48''$ en la longitud Oeste y altitud de 6.5 m (Figura 3.1). Los camarones utilizados provinieron de una hacienda situada en Vitória de Santo Antão, localizada en las afueras de la misma ciudad (Figura 3.1). Durante la colecta, se removieron los animales más grandes y pequeños para disminuir la variabilidad entre los organismos.

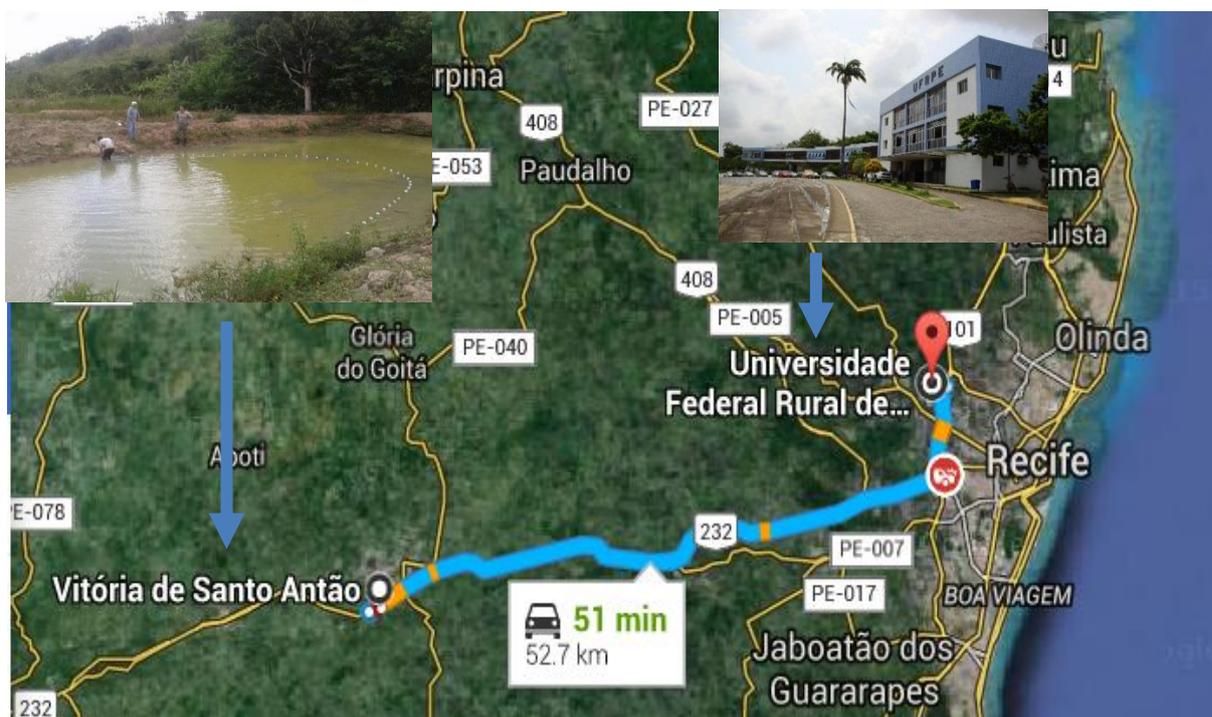


Figura 3.1. Localización de la hacienda en Vitória de Santo Antão y lugar de experimentación en UFRP (Recife, Pernambuco, Brasil).

3.2. Aclimatación de los camarones

Una vez en el laboratorio, los camarones se trasladaron a un tanque de concreto y se aclimataron durante 5 días (Figura 3.2). Durante este periodo, se realizaron recambios diarios de agua durante la mañana y se les alimentó dos veces al día (9:00 am y 4:00 pm) con alimento comercial para langostino de 35% de proteína (CAMANUTRI-Fase engorde) con una tasa de alimentación de 5% y suministrado en comederos (Figura 3.3).



Figura 3.2. Tanque de aclimatación para los camarones en la Estación de Acuicultura Profesor Johei Koike (UFRPE).



Figura 3.3. Bandejas de alimentación para los camarones.

3.3. Diseño experimental, unidades experimentales y manejo de los sistemas

El diseño experimental fue bifactorial, un factor representó el tipo de sistema (BFT o sistema tradicional) y el otro representó la presencia del sustrato. De esta manera, el experimento tuvo en total 4 combinaciones (tratamientos) que se denominaron de la siguiente manera: sistema tradicional (ST), sistema tradicional con sustrato (ST/S), sistema con tecnología de bioflocs (BFT) y sistema con tecnología de bioflocs y sustrato (BFT/S); cada uno con 3 réplicas. El planteamiento de este modelo, permitió analizar el efecto de cada factor, así como la interacción entre ambos sobre las variables de: calidad de agua, desempeño productivo y composición del alimento natural.

3.3.1. Acondicionamiento de las unidades experimentales

Las unidades experimentales fueron tanques circulares de fibra de vidrio de un 1 m^3 con un área de fondo de 1 m^2 , los cuales se distribuyeron aleatoriamente dentro de un invernadero cubierto con malla sombreadora para mejorar las medidas de bioseguridad del experimento.

En los tratamientos sistema tradicional con y sin sustrato (ST/S y ST) se intentó recrear un estanque de tierra colocando sedimento de un estanque antiguo en los tanques hasta una altura de 5 - 8 cm. Debido a que se iría a utilizar una densidad de cultivo elevada, cada tanque poseía una moderada aireación (provista por tres piedras difusoras), colocada a la mitad del tanque para evitar la remoción del fondo. Por las noches estos tanques fueron tapados y cubiertos con un plástico para evitar la pérdida de calor, proteger de la lluvia y del posible ingreso de animales no deseados.

Por otro lado, los sistemas con tecnología de bioflocs con y sin sustrato (BFT/S y BFT) poseían una fuerte aireación central proveniente desde el fondo del tanque con el objetivo de mantener los sólidos en suspensión y la concentración de oxígeno en niveles apropiados. Para evitar el excesivo crecimiento de microalgas en estos sistemas, los tanques tenían tapas que también poseían una malla sombreadora para disminuir al máximo la entrada de luz sin que el intercambio gaseoso se vea afectado (Figura 3.4), durante las noches también se colocaban plásticos protectores.



Figura 3.4. Unidades experimentales localizadas en Estación de Acuicultura Profesor Johei Koike - Universidad Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Adicionalmente, en los sistemas con BFT, dos días antes de que culminara el experimento se colocó un sedimentador para cada uno de los tanques para disminuir la concentración de sólidos, el cual poseía un flujo de 1.8 L/min (Figura 3.5).



Figura 3.5. Sedimentador para el control de sólidos en los tratamientos con tecnología de bioflocs con y sin sustrato.

En los tratamientos sistema tradicional con sustrato (ST/S) y sistema con tecnología de bioflocs con sustrato (BFT/S) se utilizaron 4 mallas de polietileno de 0.7 m de largo y 0.45 m de ancho (Figura 3.6) que incrementaron el área en un 152%. Las mallas fueron de una abertura de 3 mm; ambos lados y los espacios vacíos de la malla se consideraron en el cálculo del área de superficie.



Figura 3.6. Malla de polietileno que se utilizó como sustrato para duplicar el área de superficie del tanque.

Las mallas fueron colocadas de manera vertical, suspendidas y sujetadas con hilo de nylon (Figura 3.7). En la parte inferior de las mallas se colocaron varillas de acero inoxidable como lastre para mantenerlas tensas.

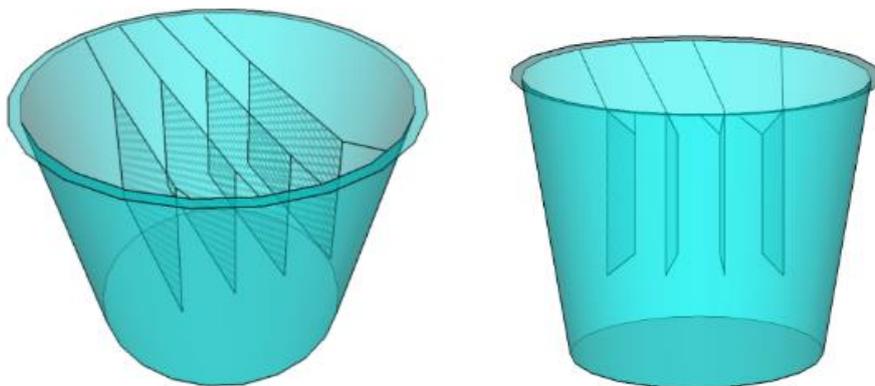


Figura 3.7. Disposición de la mallas de polietileno en las unidades de cultivo de los tratamientos con sustrato (ST/S y BFT/S).

Adicionalmente se colocaron en todos los tratamientos 3 tubos de PVC de 2 pulgadas y 10 cm de largo para propiciar refugio a los animales que estaban en estadio de muda.

Luego de este acondicionamiento, las unidades experimentales se llenaron hasta los 800 L con agua dulce potable reposada (en el caso de los sistemas con BFT hasta los 750 L ya que luego se completaría con 50 L de inóculo). Para mantener el volumen, en el caso de los sistemas tradicionales debido a la mayor pérdida por evaporación, se adicionaba entre 50 - 100 L semanalmente, mientras que en los sistemas con BFT se adicionaba como máximo 50 L quincenalmente. Aparentemente las tapas en los tanques con BFT permitieron retener parte del vapor el cual se condensaría al bajar la temperatura.

3.3.2. Maduración de los sistemas

El periodo de maduración de los sistemas duró unos 5 días. Primero, se procedió a corregir la alcalinidad y dureza en todos los tratamientos aplicando 100 g de dolomita/tanque (80% de pureza). Luego, en los sistemas tradicionales con y sin sustrato (ST/S y ST) se realizó una fertilización inorgánica con 2.08 g de fosfato monoamónico-MAP (48% de P_2O_5 y 11% de N) por tanque para tener una concentración de P en 0.125 mg/L y N en 1 mg/L (relación de N/P de 8:1) (Figura 3.8). Para el día 45 de cultivo, se hizo un reajuste de la fertilización con nitrato de sodio ($NaNO_3$) para continuar fomentando la productividad primaria, principalmente de diatomeas (la cantidad de este fertilizante dependió de la concentración de nitrógeno amoniacal total de cada tanque).

Por otro lado, los sistemas con tecnología de bioflocs con y sin sustrato (BFT/S y BFT) fueron inoculados con 50 L (Figura 3.8) provenientes de un sistema de BFT con tilapias en donde se manejaba una densidad de 10 peces/800 L, una relación de C/N de 6:1 y se colocaba 40 g de melaza (cada vez que era preciso controlar el amonio) y 40 g de alimento (de 32% de proteína) diariamente.



Figura 3.8. Fertilización en los sistemas tradicionales (A) e inoculación en los sistemas con tecnología de bioflocs (B).

Luego de la inoculación, para propiciar el crecimiento bacteriano y aparición de bioflocs se procedió a utilizar la fórmula de Viana (2007) adaptada de Avnimelech (1999), empleando los siguientes datos:

- N° de camarones por tanque: 41
- Peso promedio del camarón: 4.5 g
- Tasa de alimentación: 5%
- Porcentaje de proteína en el alimento: 35%
- Cantidad de alimento diario: 10 g (dato redondeado)
- Relación C/N de: 15:1

La fórmula de Viana (2007) establece que la cantidad de melaza adicionada en los tanques de cultivo se calcula en base a la relación C/N establecida, la cantidad de nitrógeno proveniente del alimento convertido en amonio (ΔN) y el contenido de carbono en la melaza (%C), de manera que:

$$\Delta Melaza = [\Delta N \times (C/N)] \times \%C^{-1} \quad (1)$$

Para hallar (ΔN), se asume que la concentración de amonio en el agua (proveniente de la excreción o de la degradación de residuos orgánicos nitrogenados) es aproximadamente el 50% del nitrógeno del alimento (Avnimelech, 1999), entonces:

$$\Delta N = Q \text{ Alimento} \times \% N \text{ Alimento} \times \% N \text{ Excreción} \quad (2)$$

Dónde:

Q Alimento= Cantidad de alimento diario; %N Alimento= Contenido de nitrógeno en el alimento (proteína cruda x 6.25⁻¹); %N Excreción= Nitrógeno excretado.

Por lo tanto, la cantidad de melaza a adicionar en cada unidad experimental para la maduración de los sistemas con BFT, se calculó aplicando las fórmulas (2) y (1):

$$\Delta N = \frac{0.35 \times 12 \text{ g}}{6.25} \times 0.5 = 0.28 \text{ (2)}$$

$$\Delta \text{Melaza} = \frac{0.28 \times 15}{0.30} = 14 \text{ g (1)}$$

De esta manera, se agregó 14 - 15 g de melaza durante el periodo de maduración. Esta misma cantidad se aplicó el resto del experimento, dado que los animales comían entre 8 - 12 g de ración/día (10 g en promedio, la misma que se supuso en un inicio para la maduración del sistema). La melaza se diluyó en agua y se adicionó todos los días en la mañana luego de dos a tres horas de colocar la ración, debido a la disminución de oxígeno después de colocar la melaza.

3.3.3. Siembra

El cultivo se llevó a cabo a una densidad de 41 ind./m² durante 64 días (24/02/15 - 27/04/15). Para la siembra se seleccionaron 492 individuos en total con un peso de 3 - 5.99 g (4.13 g en promedio). Debido a la moderada distancia entre el peso mínimo y máximo, se eligió el mismo número de camarones con pesos similares en todos los tratamientos, de manera que entre el peso de 3 - 3.99 g habrían 20 camarones, entre 4 - 4.99 (12 camarones) y entre 5 - 5.99 (9 camarones). De este modo todos los tratamientos tendrían la misma heterogeneidad en pesos.

3.3.4. Alimentación

Los camarones fueron alimentados con la ración comercial CAMANUTRI-35 destinado para la fase de engorde (Tabla 3.1), con una tasa de alimentación de 5% que fue ajustado de acuerdo a la observación del consumo.

Tabla 3.1. Análisis proximal del alimento comercial CAMANUTRI-35, destinado para langostinos juveniles (*Litopenaeus vannamei*) a partir de 5 g hasta la talla de cosecha.

Análisis proximal	Contenido
Proteína	35.00 % mín.
Grasa	8.00 % mín.
Fibra	4.00 % máx.
Humedad	14.00 % máx.
Ceniza	10.00 % máx.
Calcio	0.80 % mín.
Fósforo	0.70 % mín.

El horario de alimentación fue 2 veces al día (8 - 9 am, 4 - 5 pm); la ración era dividida en tres: 2 g que eran esparcidos por todo el tanque y lo restante se dividía en dos y se colocaba en dos comederos para monitorear y ajustar la ración. El alimento sobrante en los comederos fue cuidadosamente colectado antes de colocar la siguiente ración, para ser posteriormente congelado y secado al final del cultivo para el cálculo de factor de conversión alimenticia (FCA).

3.4. Parámetros de desempeño productivo

Para el monitoreo del desempeño se registró semanalmente el peso promedio (g). Para ello una vez a la semana se colectaron al azar entre 8 a 10 camarones por unidad experimental, los cuales luego de registrar su peso eran devueltos a sus respectivos tanques de cultivo. Al culminar el experimento, se pesaron todos los camarones para determinar: el peso final (g), ganancia de peso (g), productividad (g/m^2), supervivencia (%), factor de conversión alimenticia (FCA), tasa de crecimiento (g/semana) y tasa de crecimiento específico (%/día). Adicionalmente, se identificaron y clasificaron a los machos en: patas azules (PA), patas naranjas (PN) y machos pequeños (MP); y a las hembras en: vírgenes (VG), maduras (MD), ovadas (OV) y desovadas (DO) (Correia *et al.*, 2003). También se realizó una clasificación de acuerdo a su estado fisiológico como saludable o no saludable. Aquellos que se designaban como *no saludables* presentaban mutilaciones y/o necrosis en antenas, periópodos, pleópodos y rostrum.

Los parámetros de productividad, supervivencia, FCA, tasa de crecimiento (TC) y tasa de crecimiento específico (TCE) se calcularon de la siguiente manera:

- *Productividad* =

$$\text{Biomasa total en la cosecha} - \text{Biomasa total en la siembra}$$

Tacon, 1989

- *Supervivencia* = $\frac{(\text{An.vivos al final} \times 100)}{\text{An.al inicio}}$

Glencross *et al.* 2007

- *FCA* = $\frac{(\text{Total de peso seco de alimento consumido})}{\text{Ganancia de biomasa}}$

Ridha & Cruz, 2001

- *TC* = $\left[\frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{número de días}} \right]$

Glencross *et al.* 2007

- *TCE* = $\left[\frac{\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})}{\text{número de días}} \right] \times 100$

Tacon, 1989

3.5. Parámetros de calidad de agua

El oxígeno disuelto, la temperatura del agua (Multiparámetro HANNA) y el pH (pH100 ECOSENSE) fueron registrados dos veces al día antes de administrar la ración. Los sólidos sedimentables (SS) se midieron cada dos a tres días mediante el uso de conos Imhoff. El análisis de nitrógeno amoniacal total (NAT) y nitrógeno nitrital (N-NO₂) se realizó semanalmente mientras que el nitrógeno nitratal (N-NO₃) y ortofosfatos (PO₄³⁻) se midieron cada 15 días. Para el caso de estos parámetros se colectaron 100 mL de agua previamente tamizados con una malla de 90 µm. Las muestras colectadas fueron inmediatamente congeladas y analizadas mediante espectrofotometría (Espectrofotómetro DR 2800 HACH) luego de tres días como máximo.

La alcalinidad se registró semanalmente mediante el test de alcalinidad ALKAKIT. En los sistemas con bioflocs, se adicionó bicarbonato de sodio para mantener la alcalinidad cerca de 180 mg/L para disminuir la corrección a una vez por semana. En los sistemas tradicionales no se corrigió la alcalinidad porque se mantuvo durante todo el experimento por encima de 50 mg/L (lo mínimo en estos sistemas es 20 mg/L).

La fórmula utilizada para la corrección fue:

$$\text{Cantidad de bicarbonato de sodio} = \frac{(180 - \text{alcalinidad actual}) \times \text{Volumen}}{1000}$$

En donde 180 (alcalinidad deseada para evitar la corrección diaria de alcalinidad), se resta a la alcalinidad actual (registrada en el día del muestreo). El resultado se multiplica por el volumen del tanque (en este caso 800L), luego se divide entre 1000 para obtener el resultado en gramos.

Los sólidos suspendidos totales (SST) se analizaron quincenalmente, para ello se recolectaron 100 mL de agua de cada tanque, se tamizaron con filtros analíticos de microfibra de vidrio (Millipore) de 0.45 µm y 47 mm de diámetro con ayuda de una bomba de vacío y luego se secaron en una estufa a 100°C por 15 minutos.

La fórmula para obtener el valor de SST fue la siguiente:

$$SST = \frac{(P2 - P1) \times 1000}{\text{Vol. muestra}}$$

Donde:

P1 = peso inicial del filtro, P2 = peso del filtro + muestra, Vol. Muestra= volumen filtrado (100 mL), y 1000 es para la transformación de g a mg.

3.6. Análisis de alimento natural

Las colectas de las comunidades planctónicas, perifíticas y bentónicas se realizaron en tres ocasiones durante la mañana (27/03/15; 11/04/15; 27/04/15). El plancton se analizó en

todos los tratamientos, el perifiton en aquellos que poseían sustrato (ST/S y BFT/S) y el bentos en los que tenían sedimento (ST y ST/S).

En el caso del plancton la colecta se realizó de acuerdo con la metodología de Pereira Neto *et al.* (2008). Para ello se realizaron muestreos verticales en botellas plásticas de 500 mL; siendo posteriormente filtradas en las mallas de 250, 125 y 90 μm (para retención de objetos mayores) y luego en 50 y 35 μm en donde se recolectó el zooplancton y fitoplancton respectivamente. Los microorganismos fueron colectados separadamente en 500 mL de agua destilada del cual se tomaron 2 mL de sub-muestra que se guardó en un microtubo Eppendorf con 2 gotas de formol al 4% para su conservación.

En el caso del perifiton, se eligió al azar una de las 4 mallas de polietileno suspendidas y se raspó una superficie de 2 x 2 cm a 3 profundidades (cerca de la superficie, en el medio y en la parte inferior). Lo raspado se retiró con 2 mL de agua destilada y se procedió a su conservación de la misma forma que el plancton.

Las muestras de bentos fueron obtenidas con ayuda de un tubo de PVC de 2" de diámetro que sirvió a modo de émbolo para colectar aproximadamente 10 g de sedimento. Previo a su conservación se disolvió el contenido en 500 mL de agua destilada en donde se agregaron 2 mL de formol. Al momento de realizar el análisis se pasó por una malla de 250 μm y 50 μm para colectar a los macroinvertebrados, zoo y fitobentos.

Las comunidades microalgales fueron analizadas en relación a los principales grupos taxonómicos: *Heterokontophyta*, *Chlorophyta*, *Dinophyta* y *Cyanophyta*. En el caso del fitoplancton, el conteo de las células fue realizada en una cámara de Neubauer. Para el cálculo de la densidad se empleó la siguiente fórmula:

$$C = NO \times 10^{-4}$$

Donde:

NO= Número de organismos (conteo de los cuadrantes de 1 mm x 1 mm, dividido entre 4).

Los organismos del fitobentos y fitoperifiton fueron contabilizados empleando la cámara de Sedwick-Rafter utilizando la siguiente fórmula (CETESB, 2005):

$$1) FC = (A/(NC1 \times (a)^2))/FF$$

$$2) N^{\circ} \text{ células} = FC \times NC2$$

Donde:

FC= Factor de Corrección; A= Área da cámara de Sedgwick-Rafter (10 cm²); NC1= Número de campos contados; a = Área de retículo de Whipple, donde el lado del cuadrado mide 0,038 cm; FF= Factor de Filtrado (20); NC2= Número de células encontradas en los campos contados. De esta manera, el resultado se da en células/mL, para un mililitro de la muestra analizada.

Por otro lado, para el cálculo de la densidad de individuos de las comunidades *Protozoa*, *Nematoda*, *Rotifera*, *Copepoda* y *Polichaeta*, tanto del zooplancton como zooperifiton, se empleó la fórmula establecida por APHA (1995).

$$C = (NO \times VC) / (VA \times VF)$$

Donde:

NO= Número de organismos; VC= Volumen concentrado en mL (50); VA= Volumen analizado en mL (1) y VF= Volumen filtrado en mL (500).

Para las estimaciones cualitativas y cuantitativas se utilizó un microscopio binocular con un aumento de 800 veces la imagen total y se realizó la identificación hasta nivel de género mediante el uso de la clave especializada de Stanford (1999).

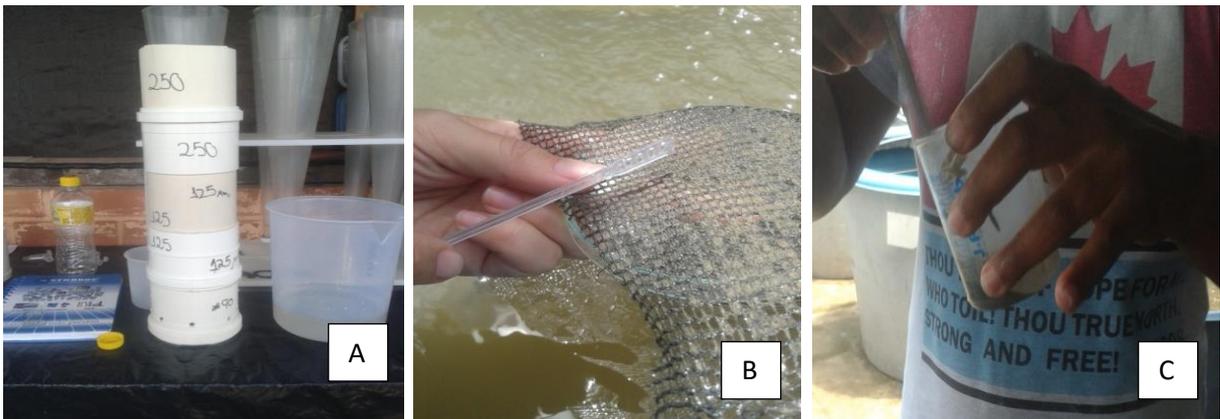


Figura 3.9. Muestreo de alimento natural: (A) Tamices para recolección de fito y zooplancton, (B) colecta de perifiton, (C) Colecta de bentos.

3.7. Determinación de la composición proximal

3.7.1. Preparación y análisis de muestras

Al finalizar el experimento, se muestrearon aleatoriamente 3 camarones de cada unidad experimental (9 por cada tratamiento). Inmediatamente, luego de ser sacrificados mediante shock térmico en frío, se trituraron enteros en una licuadora, se pesaron (para la obtención del peso húmedo) y se colocaron en una estufa a 50°C en donde se secaron durante dos días. En el caso de las muestras de bioflocs del tratamiento BFT y BFT/S, con la ayuda del sedimentador se colectaron los sólidos y luego se concentraron en un papel filtro de café para retirar el exceso de agua. Los bioflocs se colocaron en una estufa a una temperatura de 50°C durante un día. Tanto las muestras de bioflocs como de camarones fueron colocadas en un contenedor de aluminio que poseía la forma de una bandeja. Las muestras fueron bien esparcidas para que pudieran secar homogéneamente y luego fueron trituradas para disminuir el tamaño de partícula (Figura 3.10 y 3.11).

El análisis proximal (%) de las 6 muestras (2 de bioflocs y 4 de camarones, correspondientes a cada tratamiento) incluyó: proteína cruda, lípidos totales, cenizas y humedad los cuales se realizaron según el método de la Asociación de Químicos Agricultores Oficiales - AOAC (1990) adaptado por el Laboratorio de Química Analítica del Instituto de Tecnología de Pernambuco (ITP).



Figura 3.10. Procedimiento para la obtención de las muestras de camarón para realizar el análisis proximal: a) Muestra de los camarones al azar, b) desecación en estufa, c) trituración, d) muestra en polvo.



Figura 3.11. Procedimiento para la obtención de las muestras de bioflocs para realizar el análisis proximal: a) Decantación de bioflocs mediante el uso de sedimentadores, b) colecta de bioflocs, c) concentración de bioflocs, d) desecación en estufa.

a. Determinación de Humedad

Luego del secado de las muestras de camarones y bioflocs, se procedió a realizar el cálculo de humedad que se obtuvo por diferencia de peso y expresado en porcentaje. La fórmula utilizada para determinar la humedad fue la siguiente:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso total} - \text{Peso final} \times 100}{\text{Peso muestra fresca}}$$

AOAC, 1990

Donde:

Peso total = Peso del contenedor + Peso de muestra fresca; Peso final= Peso después que sale de la estufa.

b. Determinación de Materia seca

Debido a que las muestras ganan humedad luego de cierto intervalo de tiempo, previo al análisis de proteínas y lípidos se procedió a secar nuevamente las muestras en una estufa a 105°C durante una hora.

La fórmula utilizada para determinar la materia seca fue la siguiente:

$$\text{Materia seca} = \frac{\text{Peso muestra seca} \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

AOAC, 1990

Donde:

Peso de materia seca = Peso crisol con muestra seca - Peso crisol

c. Determinación de Cenizas

Los crisoles se colocaron en una estufa a 105°C durante una hora, luego se transfirieron al desecador para enfriarlos y se pesaron. En una balanza analítica de cuatro dígitos, se pesaron las muestras entre 1.0000 - 1.099 g en su respectivo crisol y se colocaron en un horno incinerador a una temperatura de 700°C durante 5 horas. Luego de reposar aproximadamente 30 minutos en el desecador, se pesaron los crisoles para prevenir la absorción de humedad.

La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$\% \text{ de Ceniza} = \text{Peso de ceniza} \times (100/\text{peso de la muestra}) \times (100/\text{materia seca})$$

AOAC, 1990

Donde:

Peso de ceniza = Peso crisol con cenizas - Peso crisol

d. Determinación de Proteínas

Para el análisis de proteínas se pesó aproximadamente 0.0500- 0.0599 g de muestra, luego se agregó 1 g del catalizador (mezcla de sulfato de potasio y sulfato de cobre) para acelerar la reacción. Luego se agregó 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado y se colocó el balón en la cocina de digestión. La digestión terminó cuando el contenido del balón se tornó completamente cristalino. El objetivo de esta digestión fue destruir la materia orgánica por acción del ácido sulfúrico concentrado para convertir el nitrógeno orgánico en iones de amonio, obteniéndose como resultado sulfato de amonio.

Luego, la muestra digerida se colocó en el aparato de destilación, se agregaron 5 mL de hidróxido de sodio concentrado e inmediatamente se conectó el vapor para que se produzca la destilación y consiguiente liberación de amoníaco. Se conectó el refrigerante y se recibió el destilado en un Erlemeyer de 125 mL conteniendo 5 mL de la mezcla de ácido bórico más indicadores de pH. La destilación terminó cuando ya no pasó más amoníaco (aproximadamente luego de 5 - 7 minutos). Se tituló con ácido clorhídrico valorado (aprox. 0.05 N) y se registró el gasto.

La cantidad de nitrógeno de la muestra se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de } N = \frac{(mL \text{ HCl} \times \text{Normalidad} \times \text{Meq } N_2 \times (100/\text{cantidad muestra})) \times 100}{\text{materia seca}}$$

AOAC, 1990

Donde:

mL HCl= Gasto de titulación; Normalidad= 0.05073; Meq N₂= 0.014

La cantidad de proteína bruta, se multiplicó por el factor 6.25; de esta manera:

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

e. Determinación de Lípidos

Los matraces fueron secados en una estufa a 105°C. Luego de una hora, se retiraron los matraces, se enfriaron en un desecador y se pesaron. Se pesó entre 1.5000 - 1.0590 g de cada una de las muestras y se colocaron sobre un pedazo de papel filtro y se empaquetó. Cada uno de los paquetes se colocó en el cuerpo del aparato Soxhlet y luego se agregó hexano (solvente) hasta que una parte del mismo fue retornado hacia el matraz. Una vez conectado a una fuente de calor, el hexano comenzó a calentarse y a evaporarse (69°C) y ascendió a la parte superior del cuerpo. Allí se condensó por refrigeración con agua y cayó sobre las muestras, regresando posteriormente al matraz por sifón, arrastrando consigo la grasa. El proceso para extraer toda la grasa duró aproximadamente 3 - 4 horas. Luego se retiraron los matraces con las muestras y un poco de hexano, se colocaron en una estufa a

una temperatura de 105°C por una hora y luego en un desecador para enfriarlas y proceder a registrar los pesos.

La fórmula empleada para la determinación de lípidos fue la siguiente:

$$\%Lípidos = \frac{(\text{Peso balón graso} - \text{Peso balón}) \times (100/\text{cantidad muestra}) \times 100}{\text{materia seca}}$$

AOAC, 1990

3.8. Análisis estadístico

Se emplearon las pruebas de Levene y Anderson-Darling para determinar la homogeneidad y normalidad de los datos. Se hizo un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) para determinar el efecto del tipo de sistema (con BFT o tradicional) y presencia del substrato así como también la interacción de ambos factores sobre el desempeño productivo, calidad de agua y alimento natural. Los datos no normales fueron transformados usando la función de *Johnson Transformation* para hallar la transformación más adecuada. Los parámetros dados en porcentaje fueron transformados en arcoseno para su análisis. En caso que los datos no cumplieren con la normalidad se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Las diferencias significativas entre los tratamientos fueron analizados con la prueba de Tukey ($P < 0.05$). La prueba de t de Student se empleó para los sólidos sedimentables (SS), el análisis proximal de los bioflocs, fitobentos, fito y zooperifiton, de no cumplir con la normalidad se empleó la prueba no paramétrica Mann-Whitney ($P < 0.05$). Para analizar la relación entre las variables de desempeño productivo se utilizó la correlación de Pearson ($P < 0.05$). Todos los datos fueron analizados usando el programa Minitab, versión 16.0.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Parámetros físico-químicos del agua

El agua contiene varios parámetros físicos-químicos que afectan el crecimiento y supervivencia de *M. rosenbergii*, siendo los más importantes: la temperatura, oxígeno disuelto y pH ya que interfieren directamente en el metabolismo y por lo tanto deben ser controlados diariamente (New *et al.*, 2010). Sin embargo, al incrementar las densidades de cultivo, es aún necesario el manejo de otros parámetros para el control de la calidad de agua, tales como: el amonio, nitrito, nitrato, ortofosfato, alcalinidad, sólidos suspendidos y sedimentables, los cuales pueden ser controlados semanal o quincenalmente.

4.1.1. Parámetros diarios

Durante el experimento, la temperatura (de mañana y tarde) en todos los tratamientos se mantuvo dentro del rango adecuado para el cultivo de *M. rosenbergii* (27 - 32°C) (Boyd & Zimmermann, 2010); con la excepción de algunos días de lluvia (10, 11, 14, 29 y 33) en los cuales decrecía hasta los 25 - 26°C. Sin embargo, según Daniels *et al.* (2010), los camarones adultos son tolerantes a un amplio rango de temperatura (18 - 34°C), y tampoco se observó algún efecto negativo en el crecimiento. En la temperatura registrada de mañana se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo ligeramente mayor en los sistemas tradicionales con y sin sustrato (ST/S y ST) (Tabla 4.1). En la tarde, las temperaturas fueron estadísticamente iguales, lo que indicó que durante el transcurso del día el incremento de calor afectó a todos los tratamientos.

En cuanto al oxígeno disuelto (OD), en la mañana y en la tarde se observa que el tipo de sistema influyó, siendo mayor en BFT (Tabla 4.1). En BFT/S y BFT la concentración de OD fue más elevada debido a la mayor aireación que requerían estos sistemas. La generación de una mayor turbulencia también pudo haber provocado una relativa pérdida

de calor en el agua durante la noche, registrando por ello una menor temperatura en la mañana.

Tabla 4.1. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos en los parámetros físico-químicos registrados en la mañana y tarde durante los 64 días de periodo experimental.

Parámetros	Tratamientos ¹				ANOVA		
	ST	BFT	ST/S	BFT/S	TS	S	TS*S
Temperatura (mañana) (°C)	27.4 ± 0.1 ^a (25.6 - 28.7)	26.93 ± 0.21 ^b (25.5 - 28.2)	27.3 ± 0.17 ^{ab} (25.7 - 28.5)	26.93 ± 0.15 ^b (25.4 - 28)	*	ns	ns
Temperatura (tarde) (°C)	28.53 ± 0.06 ^a (26.4 - 29.7)	27.73 ± 0.21 ^a (26.1 - 29)	28.37 ± 0.32 ^a (26.4 - 29.6)	27.7 ± 0.20 ^a (26.2 - 29.2)	ns	ns	ns
Oxígeno disuelto (mañana) (mg/L)	6.86 ± 0.05 ^b (5.01 - 8.81)	7.1 ± 0.07 ^a (6.18 - 8.3)	6.9 ± 0.07 ^b (5.01 - 8.83)	7.1 ± 0.05 ^a (5.71 - 8.16)	*	ns	ns
Oxígeno disuelto (tarde) (mg/L)	6.57 ± 0.06 ^c (5.77 - 7.72)	6.83 ± 0.11 ^{ab} (5.48 - 7.73)	6.67 ± 0.07 ^{bc} (5.63 - 7.84)	6.87 ± 0.07 ^a (5.88 - 7.57)	*	ns	ns
pH (mañana)	8.04 ± 0.03 ^b (7.15 - 8.93)	8.18 ± 0.04 ^a (7.63 - 8.96)	8.07 ± 0.03 ^b (7.13 - 8.88)	8.19 ± 0.02 ^a (7.6 - 8.98)	*	ns	ns
pH (tarde)	7.97 ± 0.04 ^b (7.11 - 8.81)	8.12 ± 0.02 ^a (7.35 - 8.96)	8.03 ± 0.05 ^{ab} (7.11 - 8.95)	8.12 ± 0.03 ^a (7.15 - 8.99)	*	ns	ns

Valores son medias ± DS (rango), n= 3 por cada tratamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

¹ Resultados del ANOVA de dos vías: tipo de sistema (TS), sustrato (S), interacción de tipo de sistema y sustrato (TS*S), * $P < 0.05$, diferencia no significativa (ns).

A pesar que hubieron diferencias significativas en el OD, la concentración se mantuvo por encima del óptimo para el cultivo (>5 mg/L) (Valenti *et al.*, 2010b). Según Rogers & Fast (1988), *M. rosenbergii* se estresa cuando los niveles están debajo de los 2 mg/L y se encuentran en serios problemas fisiológicos cuando se encuentran a menos de 1 mg/L (Boyd & Zimmermann, 2000). Es común que estos valores se obtengan en sistemas de cultivo convencionales semi-intensivos de *M. rosenbergii* debido a que son cuerpos de agua lénticos con un alto consumo de oxígeno durante la noche por parte de la productividad primaria. Sin embargo, al manejar densidades más elevadas (>20 ind./m²) y sobretodo en zonas tropicales, el uso de aireadores se hace necesario (Valenti *et al.*, 2010b), es por ello que en este experimento se utilizaron piedras difusoras en ST/S y ST y no se observó un descenso significativo del OD.

De acuerdo a Furtado *et al.* (2011), las altas densidades de cultivo pueden ocasionar un incremento de la tasa respiratoria y los niveles de CO₂, reduciendo como consecuencia el pH. En este estudio, a pesar de manejar una densidad de 41 ind./m², sumado a los procesos de nitrificación y crecimiento bacteriano, el pH se mantuvo dentro del rango adecuado para el cultivo (7 - 8.5) (Boyd & Zimmermann, 2010), siendo ligeramente mayor en la mañana en todos los tratamientos (Tabla 4.1). Esto probablemente a consecuencia del metabolismo de los camarones quienes se alimentaron más durante el día, disminuyendo el pH por la tarde (el OD también disminuyó por estas mismas razones). Los sistemas con BFT y BFT/S mostraron un pH significativamente mayor a ST y ST/S (Tabla 4.1) debido a la mayor alcalinidad que requerían estos sistemas (>120 mg CaCO₃/L). Del mismo modo, Bratvold & Browdy (2001) al agregar 17 g de carbonato de sodio (Na₂CO₃) en un sistema de BFT para el manejo de la alcalinidad, observó también un incremento del pH en un 0.5 luego de una hora de haber realizado la mezcla. Por otro lado, tal como el OD, el pH disminuyó conforme transcurrieron las semanas de cultivo, debido a factores como el progresivo acúmulo de materia orgánica, crecimiento de bacterias heterótrofas y proceso de nitrificación (Liu *et al.*, 2014).

4.1.2. Parámetros semanales y quincenales

Los sistemas con substrato presentaron una concentración significativamente menor de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitrógeno del nitrito (N-NO₂) y nitrógeno del nitrato (N-NO₃). Los bioflocs y la interacción entre bioflocs y substratos también contribuyeron con la disminución del N-NO₂, sin embargo, los sistemas con BFT presentaron una concentración de N-NO₃, ortofosfato (PO₄³⁻) y sólidos suspendidos totales (SST) más elevada que los sistemas tradicionales.

De acuerdo a la Tabla 4.2., el NAT en ST/S (0.34 mg/L) fue 46.9% menor que ST (0.64 mg/L) mientras que BFT/S (0.51 mg/L) fue 16.39% menor que BFT (0.61 mg/L). La menor concentración de NAT en presencia de substratos, estaría asociada al asentamiento de bacterias nitrificantes y microalgas bentónicas, las cuales prefieren colonizar substratos. Incluso, al estar colocados verticalmente los substratos, estos microorganismos tienen un mejor crecimiento debido a que en la zona pelágica hay una mayor disponibilidad de oxígeno que en la bentónica (Ramesh *et al.*, 1999).

Tabla 4.2. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos en los parámetros físico-químicos semanales y quincenales durante los 64 días de periodo experimental.

Parámetros	Tratamientos ¹				ANOVA		
	ST	BFT	ST/S	BFT/S	TS	S	TS x S
<i>Semanales</i>							
NAT (mg/L)	0.64 ± 0.1 ^a (0.01 - 1.37)	0.61 ± 0.11 ^a (0.05- 1.45)	0.34 ± 0.02 ^b (0.06 - 0.74)	0.51 ± 0.09 ^{ab} (0.06 - 1.14)	ns	*	ns
N-NO ₂ (mg/L)	0.4 ± 0.06 ^a (0.01 - 2.56)	0.18 ± 0.03 ^b (0.01 - 0.88)	0.17 ± 0.05 ^b (0.01 - 0.64)	0.08 ± 0.01 ^b (0.01 - 0.35)	*	*	*
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	78.33 ± 12.7 ^b (60 - 120)	137.33 ± 6.81 ^a (30 - 220)	77.67 ± 3.79 ^b (50 - 90)	140 ± 1.73 ^a (30 - 210)	*	ns	ns
SS (mL/L) [#]	-	11.65 ± 0.89 ^a (0.2 - 29)	-	12.68 ± 1.1 ^a (3 - 25)	-	-	-
<i>Quincenales</i>							
N-NO ₃ (mg/L)	10.6 ± 1.22 ^{ab} (0.01 - 28.7)	14.44 ± 5.24 ^a (0.01 - 33.4)	5.26 ± 0.70 ^b (0.01- 10.5)	10.91 ± 1.4 ^{ab} (0.01- 18.7)	*	*	ns
PO ₄ ³⁻ (mg /L)	5.29 ± 0.7 ^b (0.16 - 16)	8.99 ± 1.21 ^a (0.1- 25)	4.08 ± 0.43 ^b (0.11 - 13)	8.14 ± 1.19 ^a (0.09 - 21)	*	ns	ns
SST (mg/L)	123.2 ± 4.32 ^b (14.4 - 221.2)	195.84 ± 5.62 ^a (78.3 -371.9)	102.9 ± 18.93 ^b (18.5 - 243.2)	198.23 ± 14.78 ^a (36.5 - 351.1)	*	ns	ns

Valores son medias ± DS (rango), n= 3 por cada tratamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato; NAT= Nitrógeno Amoniacal Total; N-NO₂= Nitrógeno del nitrito; SS= Sólidos Sedimentables; N-NO₃= Nitrógeno del nitrato; PO₄³⁻= Ortofosfato; SST= Sólidos Suspendidos Totales.

¹ Resultados del ANOVA de dos vías: tipo de sistema (TS), sustrato (S), interacción de tipo de sistema y sustrato (TS*S), * $P < 0.05$, diferencia no significativa (ns).

[#] Prueba de *t* de Student ($P < 0.05$).

A pesar de las diferencias entre los tratamientos con o sin sustrato, no se observó que los niveles de NAT sobrepasaran el límite tolerable de 8 mg/L (Mallasen & Valenti, 2005). De acuerdo a la Figura 4.1, el tratamiento con ST/S mostró las menores concentraciones durante todo el experimento, mientras que los tratamientos ST y BFT mostraron las mayores. Luego de una disminución del NAT para el día 29, se observó un incremento en todos los tratamientos que continuó hasta el día 58, posiblemente por el acúmulo de materia orgánica (Valenti *et al.*, 2010a). Si bien se esperaba que esto no ocurriera en el caso de los tratamientos con BFT es posible que estas variaciones se deban a un proceso de maduración del sistema (Brito *et al.*, 2013). En el presente estudio, los tratamientos con BFT y BFT/S se iniciaron con 750 L de agua clara y 50 L de inóculo de

un sistema BFT con tilapia, por lo que necesariamente se pasó por un periodo de establecimiento bacteriano, explicando posiblemente las oscilaciones en las concentraciones de amonio, no obstante estas fueron bastante bajas (Anexo 1).

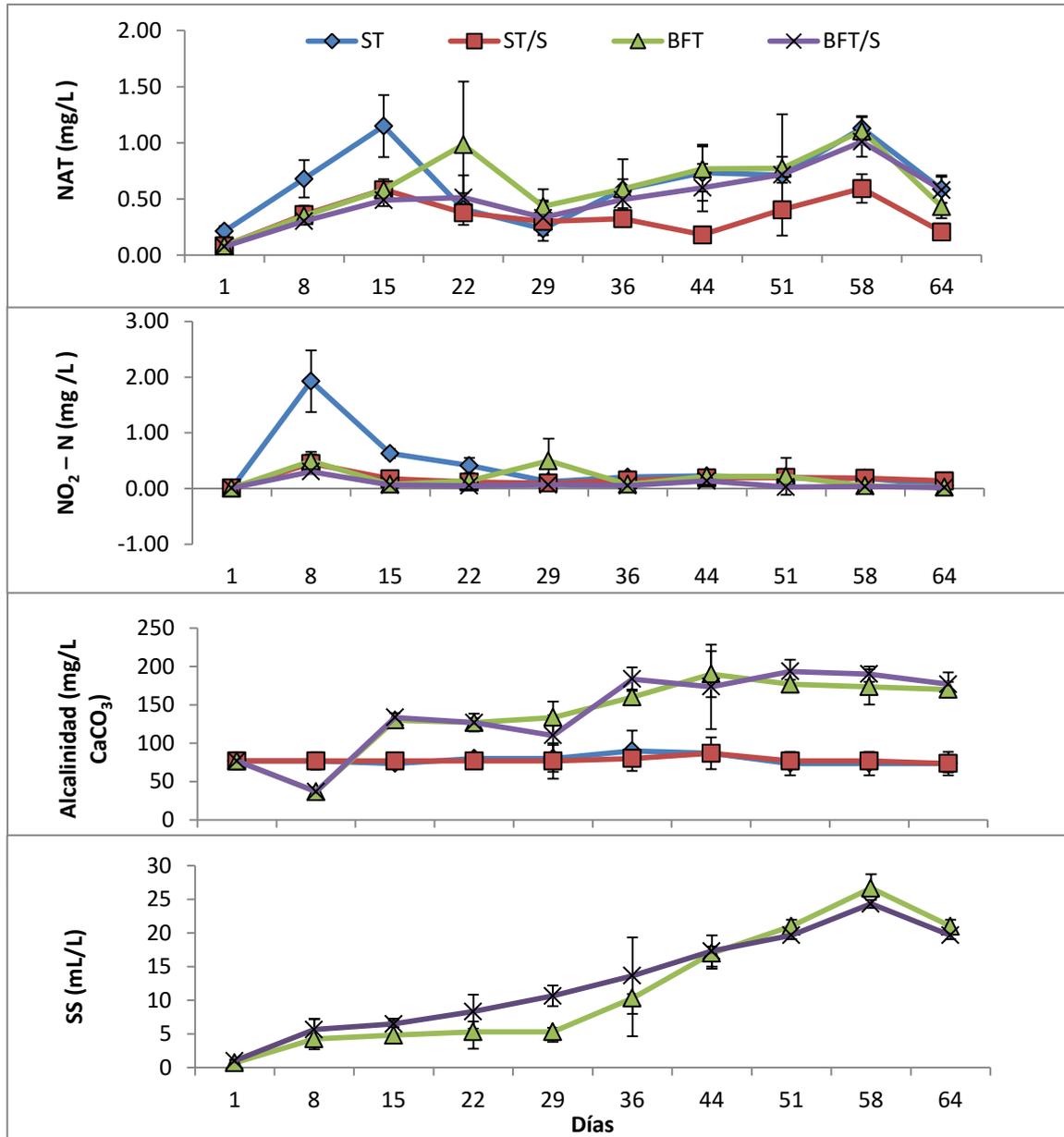


Figura 4.1. Valores promedio (\pm DS) del nitrógeno amoniacal total (NAT), nitrógeno del nitrito (N-NO₂), alcalinidad y sólidos sedimentables (SS) registrados semanalmente en los diferentes tratamientos durante los 64 días de periodo experimental.

La concentración de N-NO₂ fue significativamente mayor en el tratamiento ST, pero en ninguno de los tratamientos se observó que sobrepasara el límite de 4.7 mg/L (CABI,

2016) durante todo el experimento (Figura 4.1). De acuerdo a los resultados de ANOVA (Tabla 4.2), tanto el tipo de sistema utilizado como la adición de sustratos artificiales tuvieron un efecto positivo sobre la concentración de este compuesto, consecuentemente, es probable que la presencia de bioflocs y mallas de polietileno permitieran la colonización de las bacterias nitrificantes quienes prefieren habitar no sólo sustratos artificiales sino también sustratos orgánicos que permanecer libremente en el agua (Focht & Verstraete, 1977; Langis *et al.*, 1988). Como se observa en la Figura 4.1, estas bacterias consiguieron desarrollarse más rápidamente en ST/S, BFT y BFT/S debido a que el nitrito sólo consiguió disminuir en el tratamiento ST luego de la tercera semana.

En cuanto al N-NO_3 , en todos los tratamientos la concentración se mantuvo por debajo del límite de 180 mg/L (Mallasen *et al.*, 2003). Sin embargo, este fue significativamente menor en ST/S y se observó también un efecto positivo de la implementación de sustratos (Tabla 4.2). El tratamiento ST se comportaba de manera similar a ST/S hasta el día 29, pero luego incrementó su concentración sobrepasando incluso a los sistemas con BFT (Figura 4.2). Ello debido a que, como parte del manejo de los sistemas tradicionales, en el día 45 se realizó un ajuste de la fertilización con nitrato de sodio (NaNO_3) en los sistemas ST y ST/S para seguir fomentando la productividad primaria. Sin embargo, en el tratamiento ST/S se mantuvo bajo probablemente por el mayor consumo de nitrato por parte del fitoperifiton (Asaduzzaman *et al.*, 2010), disminuyendo hasta un 50.4% respecto a ST. En los tratamientos con tecnología de bioflocs (BFT y BFT/S) el nitrato se fue incrementando, indicando la presencia de bacterias nitrificantes (Figura 4.2). Según Hargreaves (2013), la acumulación de nitrato también refleja el acúmulo de carga del alimento en estos sistemas, y su disminución se debe realizar mediante una dilución, implementando unidades anaerobias para la desnitrificación o colocando sedimentadores como se realizó antes de finalizar este experimento.

Por otro lado, se observó que la concentración de PO_4^{3-} se incrementaba con el tiempo en todos los tratamientos como se aprecia en la Figura 4.2. Según Peñaflorida (1999), la acumulación de fósforo se debe a la descomposición del alimento no consumido y excretas. A pesar que altas concentraciones de fósforo no afectan directamente al camarón, estas pueden propiciar condiciones favorables para la proliferación de cianobacterias filamentosas las cuales pueden producir toxinas y ocasionar daño en las branquias (Wasielisky *et al.*, 2006).

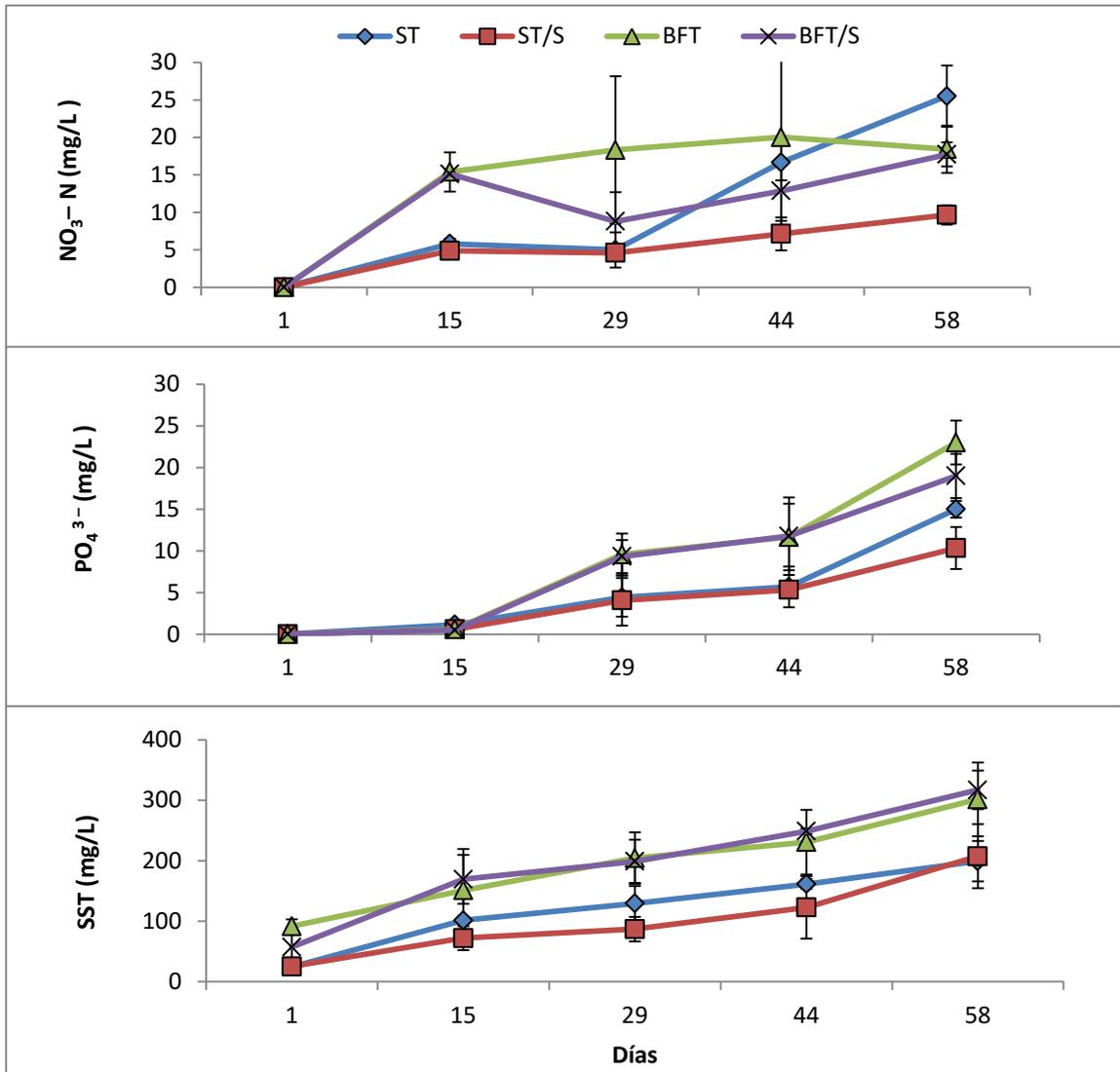


Figura 4.2. Valores promedio (\pm DS) del nitrógeno del nitrato (N-NO₃), ortofosfato (PO₄³⁻) y sólidos suspendidos totales (SST) registrados quincenalmente en los diferentes tratamientos hasta los 58 días de periodo experimental.

Según la Tabla 4.2, los niveles de PO₄³⁻ presentaron diferencias significativas de acuerdo al tipo de sistema utilizado, siendo mayores en tratamientos con BFT y BFT/S. Las menores concentraciones en ST y ST/S pudieron deberse al consumo por parte de la productividad primaria y al sedimento que fue colocado en un inicio en estos sistemas. Según Thakur & Lin (2003) una gran cantidad de fósforo (38.8 - 66.7%) que entra en el sistema es depositado en el sedimento, por lo que debido a la intensa aireación en los sistemas con BFT y BFT/S, el fósforo se encontró disponible en la columna de agua (Emerenciano *et al.*, 2011). Sin embargo, de acuerdo con Poli *et al.* (2015), el fósforo puede ser asimilado por las bacterias heterótrofas presentes en el sistema BFT, y su control

también puede ser realizado del mismo modo que el nitrato al colocar los sedimentadores para la disminución de sólidos. No se observó un efecto significativo de la presencia de substratos sobre los niveles de fósforo. Sin embargo, en el caso de los sistemas tradicionales, ST/S (4.08 mg/L) tuvo 19.8% menos que ST (5.09 mg/L). De igual manera, Asaduzzaman *et al.* (2009) reportó una disminución del PO_4^{3-} por parte del perifiton que se formaba en el substrato, demostrando nuevamente su contribución en el mantenimiento de la calidad de agua.

La concentración de SST y SS en los sistemas con BFT y BFT/S fue estadísticamente más elevada que los sistemas tradicionales (ST y ST/S) debido a la presencia de los bioflocs, producto de la adición de melaza y el consecuente crecimiento microbiano (Tabla 4.2). No se observó un efecto del substrato, pero ST/S tuvo 16.48% menos que ST, indicando su aporte en la disminución de la turbidez del agua. Durante el cultivo, los SS se mantuvieron menores al límite tolerable de 30 mL/L y los SST por debajo de 500 mg/L (Figura 4.2), los cuales son límites establecidos para el cultivo de tilapia en BFT (Hargreaves, 2013), pero en esta investigación no se observaron efectos adversos para el camarón gigante de Malasia. Con el objetivo de mantener la concentración permitida y concentrar los bioflocs para su posterior análisis proximal, en el día 58 se colocaron sedimentadores (con caudal de 1.8L/min) en cada tanque con BFT, logrando disminuir la concentración de SST y SS para el día 64 de cultivo (Figura 4.2).

4.2. Desempeño productivo

4.2.1. Crecimiento y parámetros de productividad

Los sistemas tradicionales presentaron un peso final, ganancia de peso, tasa de crecimiento (TC) y tasa de crecimiento específico (TCE) más elevado que los sistemas con BFT. Sin embargo, los tratamientos con BFT permitieron una mayor supervivencia. Los substratos también contribuyeron con una mayor supervivencia y permitieron incrementar la productividad en ambos tipos de sistemas (Tabla 4.3).

Aunque no se observe un efecto significativo de la interacción entre la implementación de substratos y BFT en la supervivencia, se observa claramente el efecto significativo de

ambos factores, siendo BFT/S (96.75%) el tratamiento con mayor supervivencia. Altas densidades de siembra usualmente determinan una baja supervivencia, sobretodo cuando comienzan a surgir los machos dominantes durante esta fase de cultivo. Sin embargo, la densidad final de 38 - 41 ind./m² en este tratamiento, la cual es relativamente alta de acuerdo a lo recomendado para la primera fase de engorde (20 - 30 ind./m²), no tuvo un efecto negativo sobre la supervivencia, indicando resultados prometedores usando la tecnología de bioflocs y substratos para el cultivo de *M. rosenbergii* en altas densidades. A pesar de la menor supervivencia en los demás tratamientos, cabe mencionar que los resultados obtenidos han sido más elevados respecto a lo que generalmente se obtiene durante la etapa de engorde en cultivos intensivos (40 - 60%).

Tabla 4.3. Efecto del tipo de sistema y presencia de substratos en los parámetros productivos de *M. rosenbergii* durante los 64 días de periodo experimental.

Parámetros	Tratamientos ¹				ANOVA		
	ST	BFT	ST/S	BFT/S	TS	S	TS x S
Peso final (g)	11.61 ± 0.88 ^a (6.1 - 28.7)	9.00 ± 0.17 ^b (4.6 - 16.9)	11.43 ± 0.18 ^a (6.4 - 23.9)	9.07 ± 0.98 ^b (4.5 - 21.6)	*	ns	ns
Ganancia de peso	7.49 ± 0.88 ^a	4.86 ± 0.16 ^b	7.3 ± 0.17 ^a	4.94 ± 0.99 ^b	*	ns	ns
Productividad (g/m ²)	344.29 ± 10.82 ^b (287.1 - 355.5)	341.95 ± 13.02 ^b (331.1 - 356.4)	403.78 ± 9.52 ^a (392.9 - 412.9)	390.38 ± 5.39 ^a (301.6 - 395.8)	ns	*	ns
Supervivencia (%)	68.29 ± 4.22 ^a (65.9 - 73.2)	92.68 ± 4.88 ^b (87.8 - 97.6)	86.18 ± 2.82 ^{ab} (82.9 - 87.8)	96.75 ± 3.73 ^c (92.7 - 100)	*	*	ns
FCA	3.31 ± 0.69 ^a (2.7 - 4.1)	2.94 ± 0.16 ^a (2.8 - 3.1)	2.17 ± 0.02 ^a (2.15 - 2.19)	2.84 ± 0.85 ^a (2.2 - 3.8)	ns	ns	ns
TC (g/semana)	0.83 ± 0.1 ^a (0.7 - 0.9)	0.54 ± 0.02 ^b (0.52 - 0.56)	0.81 ± 0.01 ^a (0.79 - 0.83)	0.55 ± 0.11 ^b (0.42 - 0.6)	*	ns	ns
TC E (%/día)	1.67 ± 0.12 ^a (1.53 - 1.76)	1.25 ± 0.03 ^b (1.23 - 1.28)	1.64 ± 0.02 ^a (1.62 - 1.67)	1.26 ± 0.19 ^b (1.05 - 1.37)	*	ns	ns

Valores son medias ± DS (rango), n= 3 por cada tratamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con substrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y substrato; FCA= Factor de conversión alimenticia; TC= Tasa de crecimiento; TCE= Tasa de crecimiento específico.

¹ Resultados del ANOVA de dos vías: tipo de sistema (TS), substrato (S), interacción de tipo de sistema y substrato (TS*S), * $P < 0.05$, diferencia no significativa (ns).

La alta densidad de cultivo y el comportamiento agresivo del camarón gigante de Malasia, conllevan a una mayor competencia por espacio, alimento y refugios, generando las mayores mortalidades en el tratamiento ST (New *et al.*, 2010). Sin embargo, esta mortalidad permitió liberar espacio y disminuir la competencia entre los organismos, obteniendo mejores resultados en la ganancia de peso, TC y TCE (Tabla 4.3).

Por otro lado, la supervivencia en ST/S aumentó en un 17.89% respecto a ST. La implementación de mallas de polietileno proporcionó refugio e incrementó el área en un 152% (disminuyendo la densidad de cultivo a 16 ind./m²). Estas condiciones sumadas a la posible disponibilidad del alimento natural predilecto del camarón (macroinvertebrados) en un inicio, permitieron obtener una buena ganancia de peso, TC y TCE al igual que en ST (Tabla 4.3). Sin embargo, puede que el mayor crecimiento de los camarones, haya influenciado hacia un aumento de la competencia (superando la capacidad de carga del sistema) y por ello se observó una mayor mortalidad que en los sistemas con tecnología de bioflocs (BFT y BFT/S).

La presencia de bioflocs permitió obtener una buena supervivencia en BFT (92.68%), sumado a la implementación de mallas de polietileno se obtuvieron los mejores resultados en BFT/S (96.75%). De acuerdo con el análisis del ANOVA (Tabla 4.3), existe un efecto positivo de los bioflocs. Esto puede deberse a que los bioflocs son alimento disponible en toda la columna de agua durante las 24h, disminuyendo la competencia, estrés y mortalidad (Xu & Pan, 2012). Según Haque *et al.* (2013) *M. rosenbergii* tiene una hábito detritívoro y se alimenta de materia orgánica sedimentada y organismos bentónicos, incluso se ha observado que esta especie prefiere consumir alimento natural que formulado. Asaduzzaman *et al.* (2008) mencionan que la producción de nuevas células microbianas a partir de la descomposición de la materia orgánica podría servir como fuente proteica para el camarón gigante de Malasia, por lo que es probable que los camarones se hayan alimentado también de los bioflocs.

No obstante, la alta densidad de camarones en BFT y BFT/S tuvo un efecto antagónico sobre la ganancia de peso y tasa de crecimiento (Valenti *et al.*, 1989). A pesar que la densidad de cultivo también pudo disminuirse en BFT/S por efecto del sustrato, siguió siendo elevada ya que en este tratamiento se obtuvo la mayor supervivencia. Del mismo modo, Asaduzzaman *et al.* (2009) encontró que la implementación de BFT y sustratos en

el policultivo de *M. rosenbergii* y *Oreochromis niloticus* permitieron el incremento de la supervivencia mas no sobre la ganancia de peso dada la correlación negativa entre ambas variables que también se verificó en este estudio (Anexo 2). Según Valenti *et al.* (2010a), el efecto de la densidad sobre el crecimiento es bastante elevado (así el alimento se encuentre disponible) debido al gasto energético que sufren por defender su territorio.

La productividad fue significativamente mayor en los sistemas con substrato, siendo ST/S (403.78 g/m²) 14.7% mayor que ST (344.29 g/m²), mientras que BFT/S (390.38 g/m²) fue 12.4% mayor que BFT (341.95 g/m²). En ST/S se debió a un buen crecimiento y supervivencia y en BFT/S al mayor número de organismos sobrevivientes. Según Valenti *et al.* (1989), normalmente una alta densidad está asociada a una alta productividad de pequeños camarones, como es el caso de BFT/S, mientras que una baja densidad conlleva a una producción de camarones más grandes pero se obtiene una menor productividad, como se observó en ST.

En los resultados del ANOVA (Tabla 4.3) se observó claramente el efecto positivo de los sustratos sobre la productividad y supervivencia en ST/S y BFT/S. Se ha sugerido en varios estudios que el uso de sustratos artificiales o naturales en el cultivo de camarones, mitigan los efectos negativos del incremento de las densidades de cultivo, debido a que proveen mayor espacio y refugio disminuyendo las interacciones negativas entre ellos, tales como la agresión y canibalismo que se acentúan durante la muda (Pandey *et al.*, 2014). Coyle *et al.* (2010) establece que el uso de sustratos como las mallas de polietileno, incrementan el espacio bidimensional para los camarones en relación al volumen del tanque, resultando en una alta supervivencia, productividad y conversión alimenticia. En un estudio de Tidwell *et al.* (1998), en el cual se evaluó el uso de mallas de plástico horizontales y redes de cerco verticalmente suspendidas para el cultivo de *M. rosenbergii* en estanques de tierra, se encontró que el peso promedio final y la productividad total fueron 20% mayores que en estanques sin sustratos (las diferencias entre sustratos y la posición no fueron significativas). En el presente estudio, se observó en reiteradas ocasiones a los camarones del tratamiento con ST/S alimentándose y caminando sobre el substrato (en BFT/S no se pudo debido al color oscuro del agua), lo cual indicó que habrían hecho uso del área provisto por las mallas de polietileno (Anexo 3).

No se encontraron diferencias significativas en el FCA entre los tratamientos. Según New *et al.* (2010), en condiciones de campo el FCA suele ser de 2:1, por lo que el FCA obtenido en este experimento es relativamente elevado (Tabla 4.3). Sin embargo, ello puede deberse a que el alimento no consumido fue recolectado, lo que no sucede en condiciones de campo, de no haberse colectado probablemente se hubiera obtenido un FCA menor. Es posible también que al no utilizarse una ración específicamente para esta especie, hayan preferido consumir el alimento natural.

4.2.2. Clasificación poblacional

Las hembras de *M. rosenbergii* parecen ser predominantes en los tratamientos ST y ST/S (Tabla 4.4). Según Karplus & Sagi (2010), en una población de esta especie generalmente el porcentaje de hembras es mayor debido a que hay una fuerte competencia entre machos. En los tratamientos con BFT y BFT/S no se observó esto debido a que hubo un mayor porcentaje de individuos de sexo indefinido a consecuencia del mayor número de organismos pequeños.

Los machos con patas azules (PA) tuvieron una mayor presencia en el tratamiento BFT luego ST/S y BFT/S (Tabla 4.4). A pesar que en ST no se encontraron estos machos, sí se registró el mayor porcentaje de machos patas naranjas (PN) quienes también se caracterizan por su comportamiento territorial, agresivo y mayor tamaño que los machos pequeños (MP). Debido a que sólo son algunos los machos dominantes dentro de una población, generalmente se encontraron MP en todos los tratamientos. Por otro lado, en cuanto a las hembras, se encontraron algunas en estado de madurez (MA), incluso ya ovadas (OV) y desovadas (DO) en los tratamientos ST y ST/S (Tabla 4.4), probablemente porque en estos sistemas se observó un mayor crecimiento y por lo tanto un mayor grado de madurez sexual. Ello demuestra también que a pesar de encontrarse en elevadas densidades de cultivo pudo observarse la reproducción de estos organismos, siendo normal que a partir de los 15 g comiencen a madurar (Ang & Law, 1991).

Tabla 4.4. Clasificación de los camarones de acuerdo al sexo, morfotipos y condición fisiológica al final del cultivo.

Sexo, morfotipo y condición fisiológica	Tratamientos			
	ST (%)	BFT (%)	ST/S (%)	BFT/S (%)
<i>Machos</i>	25.0	33.3	35.9	23.5
PA	0	15.8	5.3	3.6
PN	9.5	0	5.3	3.6
MP	90.5	84.2	89.5	92.9
<i>Hembras</i>	45.2	20.2	40.6	24.4
VG	50	95.7	53.5	89.7
MA	29	4.4	39.5	3.5
OV	13.2	0	4.7	6.9
DO	7.9	0	2.3	0
<i>Indiferenciado</i>	29.8	46.5	23.6	52.1
Saludable	67.9	71.1	71.7	89.9
No Saludable	32.1	29	28.3	10.1

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato; PA= Machos patas azules; PN= Machos patas naranjas; MP= Machos pequeños; VG= Vírgenes; MA= Maduras; OV= Ovadas; DO= Desovadas

En un estudio de Tidwell *et al.* (1998) en el cual se evaluó el efecto del uso de sustratos sobre la población de *M. rosenbergii*, se encontró que existía una mayor proporción de MP y PN en estanques sin sustratos y mayor presencia de PA y PN así como hembras ovadas y vírgenes en estanques con sustrato. Aunque esto no se encontró en el presente experimento, aún se requieren de mayores estudios para poder conocer los efectos de la adición de sustratos y el uso de BFT en la estructura poblacional de *M. rosenbergii*.

En cuanto a los organismos saludables y no saludables, se encontró que ST, ST/S y BFT tenían los porcentajes más elevados de organismos no saludables (con signos de mutilaciones y necrosis), esto posiblemente producto del estrés a altas densidades, sobretudo en ST y BFT. Si bien en ST/S, la densidad se habría reducido y habría más opción de refugio, el mayor crecimiento de los camarones así como la presencia de machos PA y PN habría generado competencia por espacio dado el comportamiento agresivo de estos morfotipos.

4.3. Análisis del alimento natural

En los estanques de tierra y sistemas con bioflocs existen procesos biológicos, químicos y físicos íntimamente relacionados que contribuyen a la formación y estabilidad de cada ecosistema en particular (Azim *et al.*, 2003; Milstein *et al.*, 2003). Dado que las microalgas son las principales reguladoras en los estanques de tierra, estos sistemas son comúnmente denominados como “sistemas fotoautotróficos”, mientras que en los sistemas con bioflocs se encuentran predominando las bacterias heterótrofas, siendo por ello conocidos también como “sistemas heterotróficos” (Ebeling *et al.*, 2006).

Según Milstein (1993) y Diana *et al.* (1997) los organismos presentes en el plancton, bentos y perifiton pueden servir como fuente de alimento natural, pero su diversidad y abundancia son influenciados por factores tales como: la especie en cultivo, hábito alimenticio, densidad de siembra, cantidad y calidad de nutrientes.

Siendo la biota acompañante de vital importancia para el manejo de la calidad de agua y desempeño productivo de *M. rosenbergii*, en este estudio se analizó el efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos sobre la abundancia y composición del plancton, bentos, bentos y perifiton de los tratamientos evaluados.

4.3.1. Plancton

a. Fitoplancton

Se identificaron 20 géneros diferentes pertenecientes a: Heterokontophyta (11), Chlorophyta (3), Cyanophyta (4) y Dinophyta (2) (Anexo 4). Los géneros más representativos fueron: *Cyclotella* y *Amphora* (Heterokontophyta) y *Aphanocapsa* (Cyanophyta) (Anexo 5). No se encontraron diferencias significativas en la abundancia total del fitoplancton, sin embargo, el tratamiento ST obtuvo el valor promedio más alto (Tabla 4.5), además de presentar la mayor biodiversidad de géneros (Anexo 6).

Tabla 4.5. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos sobre las diferentes comunidades del fitoplancton.

Divisiones	Tratamientos ¹				ANOVA		
	ST	BFT	ST/S	BFT/S	TS	S	TS x S
<i>Fitoplancton</i> (x10 ⁴ /mL).							
Heterokontophyta	22.67 ± 10.43 ^a	17.78 ± 7.73 ^a	17.5 ± 7.53 ^a	14.17 ± 4.86 ^a	ns	ns	ns
Chlorophyta [#]	1,81 ± 1.31 ^a	-	1.33 ± 1.16 ^a	2.19 ± 3.8 ^a	-	-	-
Cyanophyta	48.28 ± 11.25 ^a	44.14 ± 8.76 ^a	39.69 ± 18.43 ^a	39.44 ± 19.53 ^a	ns	ns	ns
Dynophyta ^{##}	0.68 ± 0.002 ^a	0.22 ± 0.38 ^a	-	-	-	-	-
Fitoplancton total	71.03 ± 11.15 ^a	61.06 ± 15.91 ^a	55.97 ± 24.38 ^a	52.88 ± 23.63 ^a	ns	ns	ns

Valores son medias ± DS de las 3 colectas realizadas (n=3 por cada tratamiento). Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

¹ Resultados del ANOVA de dos vías: tipo de sistema (TS), sustrato (S), interacción de tipo de sistema y sustrato (TS*S), * $P < 0.05$, diferencia no significativa (ns).

[#] Prueba de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$)

^{##} Prueba de Mann-Whitney ($P < 0.05$)

A pesar de no encontrarse diferencias significativas, el uso de mallas de polietileno probablemente afectó la abundancia de todos los grupos de microalgas (Tabla 4.5), siendo ST/S 21.22% menor que ST, y BFT/S 13.40% menor que BFT. Según Asaduzzaman *et al.* (2010) algunas especies de algas prefieren colonizar sustratos y por lo tanto optan pasar de un estado planctónico a perifítico si el sustrato se encuentra disponible. Este puede ser el caso de *Coscinodiscus* y *Navicula* (Heterokontophyta), y *Scenedesmus* (Chlorophyta) quienes poseen una menor densidad en presencia de sustrato (tratamiento ST/S), y *Aphanocapsa* y *Oscillatoria* (Cyanophyta) las cuales disminuyen tanto en ST/S como BFT/S (Anexo 5). Al formar parte del perifiton, estas microalgas podrían ser mejor aprovechadas por los camarones debido a su hábito de *pastoreo*.

No se observó un efecto del tipo de sistema, pero la abundancia total de fitoplancton en el tratamiento ST fue 14.04% mayor que en BFT, mientras que en ST/S fue 5.52% mayor que en BFT/S (Tabla 4.5). Aparentemente, la presencia de una malla sombreadora adicional en

las tapas de los tanques así como la acumulación de bioflocs limitó el crecimiento de algunas microalgas en los sistemas con BFT.

De acuerdo con la Tabla 4.6, cada una de las divisiones se comportó de una forma muy variable en cada tratamiento, la abundancia total del fitoplancton incrementó hasta el final del cultivo, con excepción de los tratamientos ST/S y BFT en donde se observó una ligera caída en el último muestreo realizado.

Tabla 4.6. Evolución de la abundancia del fitoplancton en los diferentes tratamientos en las colectas realizadas.

Tratamiento	Fitoplancton División	Colecta (x10 ⁴ /mL)		
		1	2	3
ST	Heterokontophyta	7.17	33.17	27.67
	Chlorophyta	2.33	0.33	2.75
	Cyanophyta	51.33	42.17	51.33
	Dinophyta	0.08	0.17	1.75
	TOTAL	60.91	75.83	83.50
ST/S	Heterokontophyta	7.67	22.42	22.42
	Chlorophyta	0.67	0.67	2.67
	Cyanophyta	27.58	47.83	43.67
	TOTAL	35.92	70.92	68.75
BFT	Heterokontophyta	3.25	28.33	21.75
	Chlorophyta	0.00	0.00	0.00
	Cyanophyta	27.08	56.83	48.50
	Dinophyta	0.00	0.08	0.58
	TOTAL	30.33	85.25	70.83
BFT/S	Heterokontophyta	5.25	18.92	19.17
	Chlorophyta	4.00	0.00	2.58
	Cyanophyta	39.33	36.42	42.58
	TOTAL	48.58	55.33	64.33

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

Las Cyanophyta fueron los organismos más abundantes en todos los tratamientos, seguido por las Heterokontophyta y en menor proporción las Chlorophyta y Dinophyta (Figura 4.3).

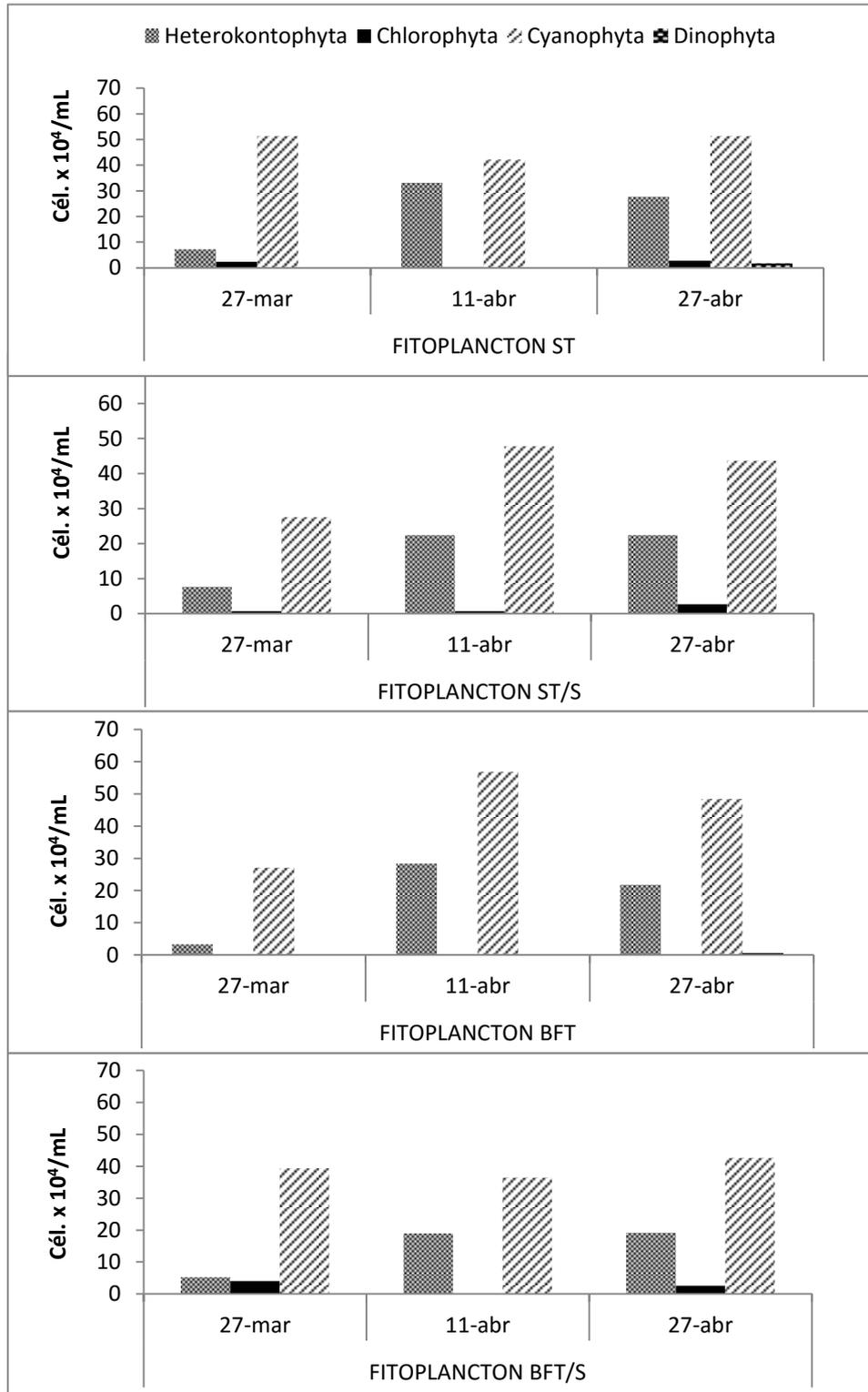


Figura 4.3. Evolución del crecimiento del fitoplancton en los diferentes tratamientos en las colectas realizadas.

Según Boyer (2004) la predominancia de cianobacterias podría deberse al acúmulo de materia orgánica y fósforo, lo cual se observó en todos los tratamientos. Adicionalmente, es probable que el alimento formulado haya liberado mucho fósforo o que la relación N/P haya sido baja (Blomqvist *et al.*, 1990). Si la relación de N/P es $< 10:1$, quiere decir que hay una limitación de nitrógeno, que afectaría el crecimiento de las microalgas, pero como la mayoría de cianobacterias pueden fijar el nitrógeno atmosférico estas pueden crecer y por lo tanto predominar en el ecosistema (Dolman *et al.*, 2012).

El menor crecimiento de diatomeas favoreció indirectamente a las cianobacterias. De acuerdo con Pereira Neto *et al.* (2008) y Boyd (2003), debido a la competencia natural entre ambas comunidades, es necesario que antes de iniciar el cultivo se utilicen fertilizantes con nitrato de sodio (NaNO_3) y metasilicato de sodio (Na_2SiO_3) para fomentar el crecimiento de diatomeas (dado a que estas microalgas poseen las enzimas nitrato reductasa y requieren de sílice para la formación de su pared celular). La presencia de estos organismos es de suma importancia por contribuir nutricionalmente en la alimentación del camarón, mientras que las cianobacterias en altas densidades podrían tener efectos adversos debido a la producción de toxinas y porque pueden producir amonio al fijar nitrógeno atmosférico, deteriorando la calidad de agua (Pereira Neto *et al.*, 2008; Wasielesky *et al.*, 2006).

El bajo crecimiento de las clorofíceas en todos los tratamientos se debió a que los tanques se encontraban en un vivero con malla sombreadora, y también por la presencia de sedimento suspendido y bioflocs en los tratamientos con sistemas tradicionales y con BFT respectivamente. Cabe mencionar que la clorofila “a” tiene una banda principal de absorción hacia 665 - 670 nm (rojo). Las radiaciones rojas son las más absorbidas por el agua, en efecto, cerca de la superficie son comunes las clorofíceas, y a mayor profundidad las diatomeas, quienes contienen mayor proporción de pigmentos capaces de absorber radiaciones de longitud de onda más breve (Margalef, 1974; Balech, 1964; Castellví *et al.*, 1972). Consecuentemente, las diatomeas poseen mayores adaptaciones para crecer en condiciones con menos luz que las clorofíceas, por ello se encontraron en mayor densidad. Según Hoek *et al.* (1995), las cianobacterias consiguen utilizar con eficiencia las bajas intensidades de luz, lo cual probablemente también explique su mayor abundancia.

b. Zooplancton

Se identificaron 7 organismos diferentes pertenecientes a: Protozoa (1), Nematoda (1), Rotifera (2), Copepoda (2), Polichaeta (1) (Anexo 7). Los géneros más representativos fueron *Arcella* (Protozoa), *Euchlanis*, *Trichocerca* (Rotifera) y los órdenes *Harpacticoida*, *Calanoida* (Copepoda). Los nemátodos y poliquetos no pudieron ser identificados. Muestras en fresco reportaron la presencia de organismos del género *Daphnia* y orden *Conchostraca*, sin embargo, no se encontraron en los muestreos contabilizados.

Tabla 4.7. Evolución de la abundancia del zooplancton en los diferentes tratamientos en las colectas realizadas.

Tratamiento	Zooplancton División	Colecta (ind./mL)		
		1	2	3
ST	Protozoa	4.33	9.8	15.83
	Nematoda	0.97	1.13	1.33
	Rotifera	1.57	2.57	3.6
	Copepoda	0	0.07	0.37
	TOTAL	6.87	13.57	21.13
ST/S	Protozoa	1.97	3.97	6
	Nematoda	0.33	0.17	0
	Rotifera	0.43	0.43	0.53
	Copepoda	0	0.03	0
	TOTAL	2.73	4.6	6.53
BFT	Protozoa	40.87	62.63	84.67
	Nematoda	0.3	0.47	0.67
	Rotifera	23.37	51	78.67
	Copepoda	3.1	1.9	0.67
	Polichaeta	0	1.17	0.33
TOTAL	67.64	117.17	165.01	
BFT/S	Protozoa	91.8	91.83	92
	Nematoda	0.47	0.57	0.67
	Rotifera	21.5	31.9	42.33
	Copepoda	16.67	8.83	2.3
	TOTAL	130.44	133.13	137.3

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

La abundancia total del zooplancton total incrementó progresivamente en todos los tratamientos (Tabla 4.7; Figura 4.4), probablemente por el aumento de materia orgánica,

bacterias y productividad primaria de la cual estos microorganismos se alimentan. No obstante, se observa una disminución de los copépodos en BFT y BFT/S, probablemente estos sirvieron como fuente de alimento natural para los camarones.

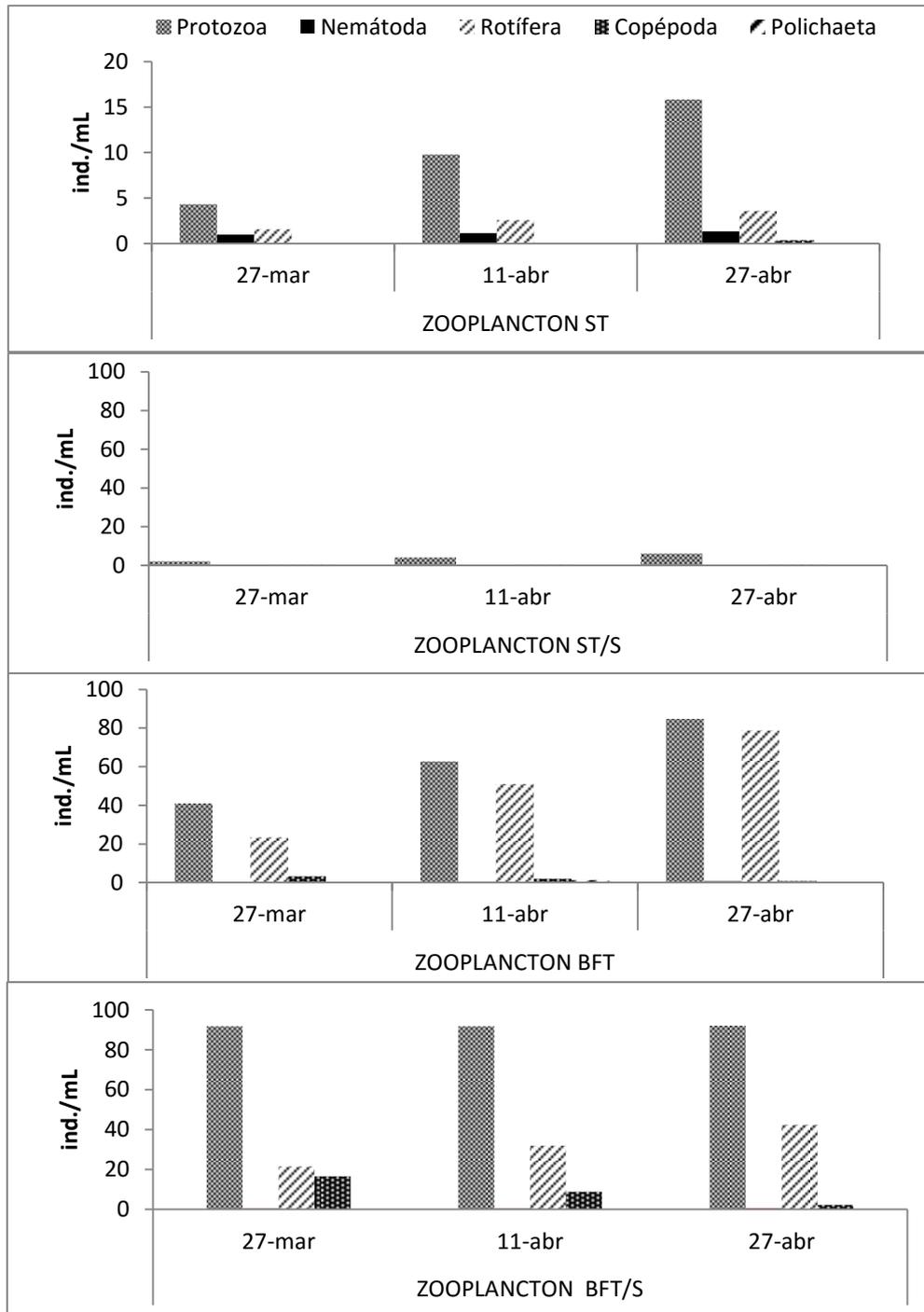


Figura 4.4. Evolución del crecimiento del zooplancton en los diferentes tratamientos en las colectas realizadas.

La abundancia total del zooplancton fue afectada por el tipo de sistema utilizado, siendo significativamente mayor en los tratamientos con bioflocs (Tabla 4.8). De esta manera, BFT fue 88.08% mayor respecto a ST, y BFT/S fue 96.53% mayor que ST/S.

Tabla 4.8. Efecto del tipo de sistema y presencia de sustratos sobre las diferentes comunidades del zooplancton.

Divisiones	Tratamientos ¹				ANOVA		
	ST	BFT	ST/S	BFT/S	TS	S	TS x S
<i>Zooplancton (ind./mL)</i>							
Protozoa	8.71 ± 3.57 ^{bc}	62.72 ± 1.38 ^{ab}	3.98 ± 2.98 ^c	91.88 ± 46.43 ^a	*	ns	ns
Nematoda [#]	1.14 ± 1.22 ^a	0.48 ± 0.66 ^a	0.17 ± 0.29 ^a	0.60 ± 0.51 ^a	-	-	-
Rotifera	2.58 ± 2.27 ^{ab}	51.01 ± 28.25 ^a	0.46 ± 0.2 ^b	31.91 ± 37.33 ^a	*	ns	ns
Copepoda [#]	0.15 ± 0.2 ^a	1.9 ± 2.3 ^a	0.02 ± 0.04 ^a	9.1 ± 15.3 ^a	-	-	-
Polichaeta	-	0.17 ± 0.29	-	-	-	-	-
Zooplancton total [#]	13.86 ± 7.72 ^{ab}	116.27 ± 27.25 ^a	4.63 ± 2.37 ^b	133.44 ± 90.85 ^a	*	ns	ns

Valores son medias ± DS de las 3 colectas realizadas (n= 3 por cada tratamiento). Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

¹ Resultados del ANOVA de dos vías: tipo de sistema (TS), sustrato (S), interacción de tipo de sistema y sustrato (TS*S), * $P < 0.05$, diferencia no significativa (ns).

[#] Prueba de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$).

La abundancia del zooplancton en los tratamientos con tecnología de bioflocs fue dada principalmente por las divisiones Protozoa y Rotifera quienes fueron significativamente mayores (Tabla 4.8), debido a que estos microorganismos están asociados a ambientes con alta carga de materia orgánica y densidad bacteriana (De Schryver *et al.*, 2008). Los protozoos y otros organismos de la mesobiota, generalmente se alimentan de las bacterias que se encuentran en la capa externa de los bioflocs, ya que entre los mecanismos de protección de las bacterias, éstas pueden incrementar de tamaño para evitar ser consideradas como presa y pueden juntarse entre ellas y formar microcolonias, de manera que sólo puedan ser removidas las que se encuentran al exterior (Matz & Kjelleberg, 2005). Ferreira-Marinho *et al.* (2014) y Asaduzzaman *et al.* (2009) también observaron predominancia de rotíferos en sistemas BFT con langostino y camarón de Malasia respectivamente. Posiblemente estos organismos poseen adaptaciones a altos niveles de

nutrientes y sólidos. Loureiro *et al.*(2012), indican que los rotíferos frecuentemente están asociados a los bioflocs debido a que pueden fragmentarlos y consumir las bacterias y protozoarios adheridos, además el mucílago producido por sus excreciones también ayuda a la formación de nuevos bioflocs (Pérez, 2010).

Aunque no se encontraron diferencias significativas en la abundancia de copépodos, se encontró una mayor presencia de estos organismos en los sistemas con bioflocs, sin embargo, su abundancia fue muy variable. En el caso de los sistemas con BFT, generalmente se encontraron nauplios y algunos adultos del orden Harpacticoida, quienes se caracterizan por vivir adheridos a la materia orgánica alimentándose del detritus u organismos vivos o inertes (Lee *et al.*, 2005). Por otro lado, en los sistemas tradicionales se observaron copépodos del orden Calanoide (Anexo 7), que también son ricos en proteína, sin embargo, estos no fueron muy abundantes probablemente porque su principal alimento (clorofíceas y rotíferos) fue limitado en estos sistemas.

Por otro lado, la abundancia total del zooplancton en ST fue 66.59% mayor que ST/S, mientras que BFT/S fue 12.9% mayor que BFT (Tabla 4.8). La mayor abundancia total en ST respecto a ST/S (dada principalmente por protozoos y rotíferos) podría deberse a una mayor concentración de estos organismos en los sustratos en los cuales se habría formado el perifiton, disminuyendo la densidad del zooplancton en la columna de agua. La mayor concentración de zooplancton en BFT/S respecto a BFT, se debió a la mayor abundancia de protozoos. Dado que la concentración de SS en BFT/S fue mayor durante casi todo el experimento, es probable que haya habido una mayor abundancia de bacterias y materia orgánica, y por lo tanto una mayor abundancia de protozoos en este tratamiento.

4.3.2. Bentos

En el análisis del bentos se planteó analizar el fitobentos, zoobentos y macroinvertebrados, sin embargo sólo se encontró fitobentos. Probablemente, si bien se colocó sedimento de un estanque antiguo, la alta densidad de camarones consumió gran parte del zoobentos y macroinvertebrados. La densidad de las poblaciones bentónicas aparentemente están directamente relacionadas con el nivel de predación el cual a su vez depende de la biomasa de camarones residente (D'Abramo & New, 2010). De acuerdo con estos autores, cuando el alimento formulado no satisface completamente la nutrición de *M. rosenbergii*, los

animales se ven forzados a consumir el bentos. Dado que es muy probable que la ración para langostino no haya sido del todo adecuada para *M. rosenbergii*, es posible que haya ocurrido este consumo del bentos. Además, la primera colecta se realizó luego de la cuarta semana, por lo que el bentos para ese entonces podría haber estado en poca abundancia debido a la fuerte depredación. Es posible también que estos organismos no se hayan podido adaptar a este nuevo hábitat y continuar con su ciclo de vida; o tal vez la colecta del alimento formulado no consumido haya limitado los nutrientes.

En el fitobentos, se identificaron 21 géneros diferentes pertenecientes a: Heterokontophyta (12), Chlorophyta (4), Cyanophyta (4) y Dinophyta (1) (Anexo 4). Los géneros más representativos fueron: *Navicula*, *Coscinodiscus*, *Phaedactylum*, *Pinnularia*, *Melosira*, *Thalassiosira* y *Synedra* (Heterokontophyta), *Pediastrum* y *Scenedesmus* (Chlorophyta), *Aphanocapsa*, *Merismopedia*, *Oscillatoria* y *Phormidium* (Cyanophyta) (Anexo 5).

La abundancia de todas las divisiones en el tratamiento ST disminuyó con el tiempo, mientras que en ST/S la abundancia aumentó hasta el día 47, pero en el día 63 se observó una ligera caída dada principalmente por las Heterokontophyta y Chlorophyta, ya que las Cyanophyta se mantuvieron constantes (Tabla 4.9; Figura 4.5). Aparentemente, en ambos tratamientos se observa una disminución de las microalgas, sobretodo en ST, probablemente por el mayor pastoreo de los camarones en el bentos ya que en ST/S los camarones también tendrían opción de consumir el fitoperifiton.

Tabla 4.9. Evolución de la abundancia del fitobentos en los sistemas tradicionales en las colectas realizadas.

Tratamiento	Fitobentos	Colecta (cél./mL)		
	División	1	2	3
ST	Heterokontophyta	4397.51	3503.83	1000.31
	Chlorophyta	1396.58	935.73	0
	Cyanophyta	871.42	636.87	496.31
	Dinophyta	69.25	69.25	0
	TOTAL	6734.76	5076.42	1496.61
ST/S	Heterokontophyta	1685.13	2693.14	2262.23
	Chlorophyta	37.51	46.72	0
	Cyanophyta	975.3	1153.1	1154.2
	TOTAL	2697.95	3892.96	3416.44

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato.

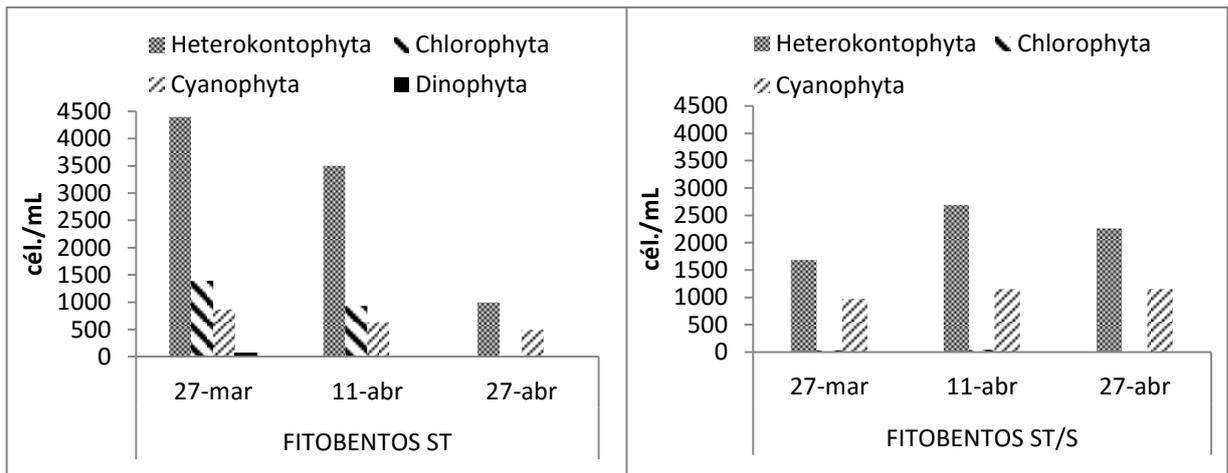


Figura 4.5. Evolución del crecimiento del fitobentos en los sistemas tradicionales en las colectas realizadas.

De acuerdo con la Tabla 4.9, las Heterokontophyta predominaron en el fitobentos, seguido por las Cyanophyta, y en menor densidad las Chlorophyta y Dinophyta. La mayor abundancia de diatomeas en el fitobentos se debe a que la mayoría de estas especies poseen un hábito bentónico y como se mencionó anteriormente poseen adaptaciones para vivir en condiciones de poca luz. Además, según Hoek *et al.* (1995), las diatomeas tienen una pared celular de sílice que las hace más densas, habiendo una tendencia muy grande que parte de la población esté sobre el sustrato. Aunque también existen algunas especies que poseen adaptaciones tales como formar largas cadenas, espinas de sílice o colonias en zig-zag o estrelladas para evitar el hundimiento. Aquellas que prefieren adherirse al sustrato generalmente forman mucílago que las hacen más resistentes al movimiento del agua (Round, 1990), entre ellos se encuentran los géneros registrados tanto en el sedimento como en el sustrato artificial (Anexo 5). Entre los géneros de importancia nutricional ampliamente reconocida destacan: *Navicula* y *Thalassiosira* en ST; *Chaetoceros* y *Phaeodactylum* en ST/S. Su consumo probablemente haya contribuido en el crecimiento y ganancia de peso de los camarones en estos sistemas.

A pesar que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, en ST se obtuvo una abundancia total 24.8% mayor que ST/S (Tabla 4.10) así como una mayor diversidad de géneros (Anexo 4). La menor abundancia en ST/S podría atribuirse a la presencia del sustrato, debido a que las microalgas bentónicas tendrían la oportunidad de

adherirse a sustratos más cercanos a la superficie, en donde habría menor competencia por luz y oxígeno.

Tabla 4.10. Comparación de las diferentes comunidades del fitobentos entre los sistemas tradicionales.

Divisiones	Tratamientos ¹	
	ST	ST/S
<i>Fitobentos (cél./mL)</i>		
Heterokontophyta	2967 ± 2095 ^a	2214 ± 1421 ^a
Chlorophyta [#]	777.4 ± 770.5 ^a	28.1 ± 39.4 ^a
Cyanophyta	668.2 ± 568.7 ^a	1082.7 ± 1065.7 ^a
Dinophyta	23.08 ± 39.98	-
Total Fitobentos	4436 ± 3456 ^a	3336 ± 248 ^a

¹Valores son medias ± DS de las 3 colectas realizadas (n= 3 por cada tratamiento). Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato.

Resultados de la Prueba de *t* de Student ($P < 0.05$)

[#]Prueba de Mann -Whitney ($P < 0.05$)

4.3.3. Perifiton

a. Fitoperifiton

Se identificaron 22 géneros diferentes pertenecientes a: Heterokontophyta (12), Chlorophyta (3) y Cyanophyta (7) (Anexo 4). Los géneros más representativos fueron: *Coscinodiscus*, *Gomphonema*, *Melosira*, *Navicula*, *Phaedactylum*, *Synedra* y *Thalassiosira* (Heterokontophyta), *Aphanocapsa*, *Aphanizomenon*, *Gloecapsa* y *Oscillatoria* (Cyanophyta) (Anexo 5).

La abundancia total del fitoperifiton aumentó hasta la segunda colecta, sin embargo, en la tercera se observó una disminución, ocasionada principalmente por las divisiones Heterokontophyta y Cyanophyta en ST/S y Cyanophyta en BFT/S. Las Heterokontophyta predominaron en el fitoperifiton en la primera colecta en ambos tratamientos, sin embargo, en las subsiguientes colectas, el patrón de dominancia fue el mismo que en el fitoplancton,

siendo las Cyanophyta el grupo más abundante, luego las Heterokontophyta (Tabla 4.11; Figura 4.6).

Tabla 4.11. Evolución de la abundancia del fitoperifiton en los tratamientos con sustratos en las colectas realizadas.

Tratamiento	Fitoperifiton División	Colecta (cél./mL)		
		1	2	3
ST/S	Heterokontophyta	2409.4	2443.06	1774.58
	Chlorophyta	0	302.98	403.97
	Cyanophyta	620.38	13682.09	8460.3
	TOTAL	3029.78	16428.13	10638.85
BFT/S	Heterokontophyta	1269.62	2164.13	2810.48
	Chlorophyta	0	0	0
	Cyanophyta	307.79	6838.64	4684.13
	TOTAL	1577.41	9002.77	7494.61

ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

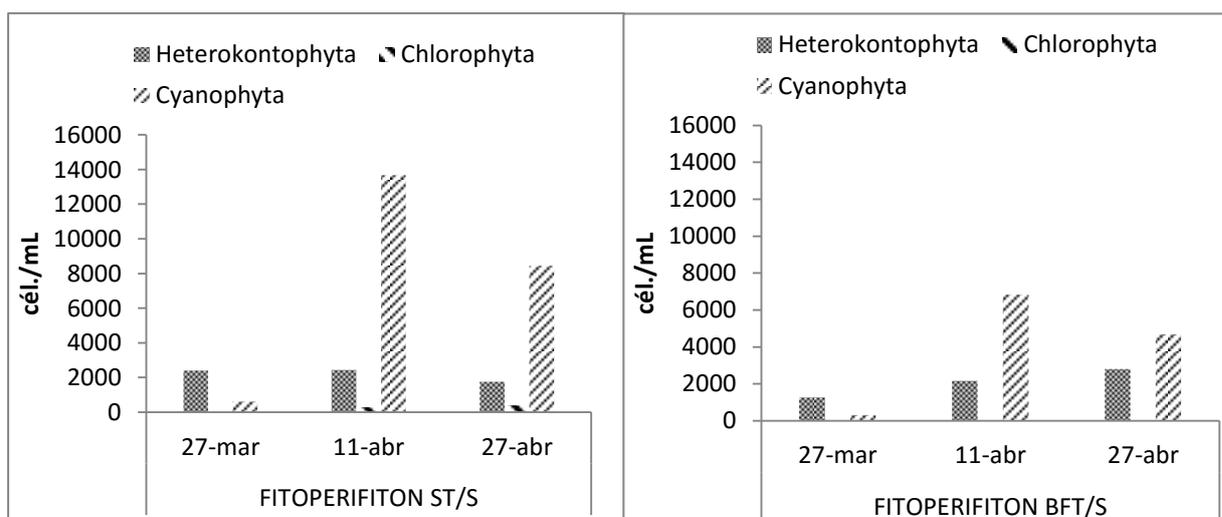


Figura 4.6. Evolución del crecimiento del fitoperifiton en los tratamientos con sustratos en las colectas realizadas.

No se encontraron diferencias significativas en el total de fitoperifiton ni sus divisiones, no obstante, el tratamiento ST/S obtuvo una abundancia total 45.52% mayor que BFT/S (Tabla 4.12). Esto se debió principalmente a la mayor densidad de cianobacterias (48.02% más) y presencia de clorofíceas (Anexo 5) ya que las diatomeas tuvieron una abundancia similar en ambos tratamientos con sustrato (Tabla 4.12).

Tabla 4.12. Comparación de las diferentes comunidades del fitoperifiton entre los tratamientos con substratos.

Divisiones	Tratamientos ¹	
	ST/S	BFT/S
<i>Fitoperifiton (cél./mL)</i>		
Heterokontophyta	2199 ± 189 ^a	2081 ± 1975 ^a
Chlorophyta	235.6 ± 408.2	-
Cyanophyta [#]	7588 ± 6404 ^a	3944 ± 1378 ^a
Total Fitoperifiton [#]	10032 ± 6390 ^a	5465 ± 1487 ^a

¹Valores son medias ± DS, de las 3 colectas realizadas (n= 3 por cada tratamiento). Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST/S= Sistema tradicional con substrato; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y substrato.

Resultados de la Prueba de *t* de Student ($P < 0.05$)

[#]Prueba de Mann -Whitney ($P < 0.05$)

La composición del fitoperifiton difirió a la del fitobentos al presentar microalgas del género: *Bacillaria* (Heterokontophyta), *Tetraspora* (Chlorophyta), *Aphazinomenon*, *Gloecapsa* y *Schizothrix* (Cyanophyta). Por otro lado, el fitoperifiton se diferenció del fitoplancton por presentar: *Fragillaria*, *Phaedactylum*, *Melosira*, *Pinnularia*, *Stauroneis* y *Surrela* (Heterokontophyta), *Tetraespora* (Chlorophyta), *Aphanizinomenon*, *Gloecapsa*, *Phormidium* y *Shizothrix* (Cyanophyta). De esta manera, mediante la adición de substratos fue posible incrementar la abundancia y diversidad de microalgas en los tratamientos ST/S y BFT/S, sobretodo en el caso de las diatomeas (Heterokonthophyta), las cuales son las más importantes nutricionalmente dentro del grupo de microalgas. El tratamiento BFT/S destacó por poseer una mayor densidad de microalgas con reconocida importancia nutricional tales como *Navicula*, *Phaeodactylum* y *Thalassiosira* (Anexo 6).

b. Zooperifiton

Se identificaron 6 organismos diferentes pertenecientes a: Protozoa (1), Nematoda (1), Rotifera (2), Copepoda (2) (Anexo 7). Los géneros más representativos fueron *Arcella* (Protozoario), *Euchlanis*, *Trichocerca* (Rotifera), *Harpacticoida* y *Calanoida* (Copepoda). Nemátodos no pudieron ser identificados.

El progresivo incremento de materia orgánica, organismos autótrofos, heterótrofos y formación del perifiton pudieron posibilitar el crecimiento principalmente de protozoos y nemátodos en ST/S, y rotíferos y protozoos en BFT/S hasta el final del cultivo (Tabla 4.13; Figura 4.7).

Tabla 4.13. Evolución de la abundancia del zooperifiton en los tratamientos con sustrato en las colectas realizadas.

Tratamiento	Zooperifiton División	Colecta (ind./mL)		
		1	2	3
ST/S	Protozoa	62	61	60.33
	Nematoda	1.33	4.67	8
	Rotifera	14	25.17	36.33
	Copepoda	2	2.33	2.67
	TOTAL	79.33	93.17	107.33
BFT/S	Protozoa	22.27	36.33	51
	Nematoda	0.13	2.33	0.33
	Rotifera	30.43	88.37	146.33
	Copepoda	6.73	5.7	5
	TOTAL	59.56	133.2	202.66

ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

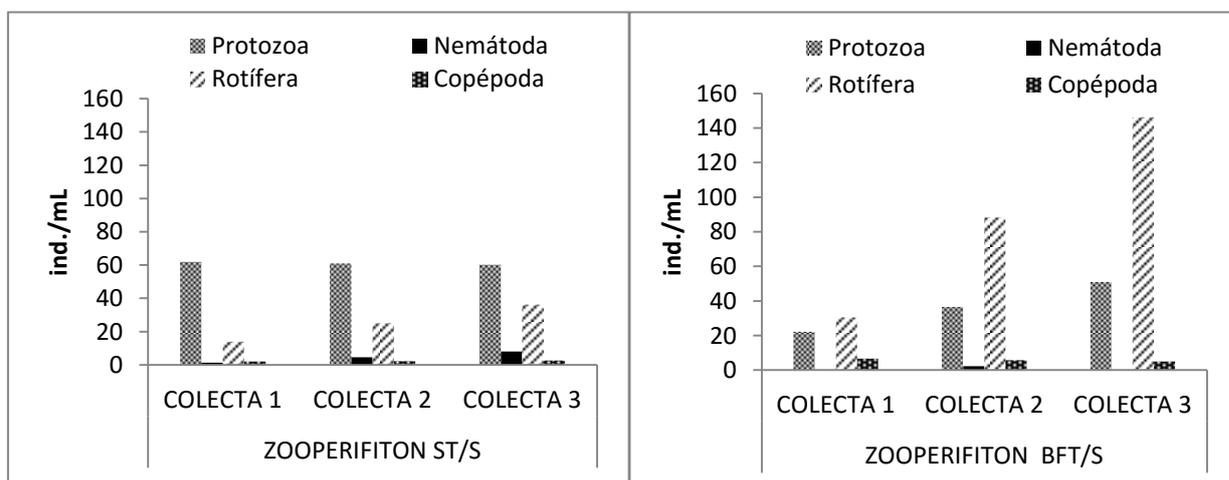


Figura 4.7. Evolución del crecimiento del zooperifiton en los tratamientos con sustratos en las colectas realizadas.

Los análisis estadísticos indicaron que no se encontraron diferencias significativas (Tabla 4.14), sin embargo, el tratamiento BFT/S presentó una abundancia total de zooperifiton

28.85% mayor que ST/S, dada principalmente por la mayor abundancia promedio de rotíferos y copépodos, mientras que los protozoos y nemátodos fueron más abundantes en ST/S.

Tabla 4.14. Comparación de las diferentes comunidades del zooperifiton entre los tratamientos con substratos.

Divisiones	Tratamientos ¹	
	ST/S	BFT/S
<i>Zooperifiton (ind./mL)</i>		
Protozoa	61.11 ± 8.72 ^a	36.63 ± 15.95 ^a
Nematoda [#]	4.67 ± 4.16 ^a	0.23 ± 0.4 ^a
Rotifera	25.17 ± 11.77 ^a	88.38 ± 45.69 ^a
Copepoda [#]	2.33 ± 2.51 ^a	5.87 ± 7.912 ^a
Total Zooperifiton	93.28 ± 15.1 ^a	131.11 ± 55.94 ^a

¹Valores son medias ± DS, de las 3 colectas realizadas (n= 3 por cada tratamiento). Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST/S= Sistema tradicional con substrato; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y substrato.

Resultados de la Prueba de *t* de Student ($P < 0.05$)

[#]Prueba de Mann -Whitney ($P < 0.05$)

Los protozoos y nemátodos poseen un alto contenido proteico y energético, y además poseen la habilidad para sintetizar ácidos grasos de cadena poliinsaturada (Ballester *et al.*, 2007; Zhukova & Kharlamenko, 1999). Ray *et al.* (2010), mencionan que los nemátodos son uno de los grupos más importantes en los sistemas con bioflocs y que su abundancia está determinada por la presencia de diversos ciliados que le sirven de alimento. Si bien no se realizó un análisis de isotopos de carbono ni tampoco del contenido estomacal, diversos autores señalan que los nemátodos presentes en el perifiton y bentos conforman parte de la dieta preferida de *M. rosenbergii* contribuyendo con su nutrición (Tidwell *et al.*, 1997; Uddin *et al.*, 2006; Uddin, 2007). Aparentemente, no hubo diferencias significativas entre ambos tratamientos, pero se encontró la mayor abundancia promedio en ST/S sobre todo al final del experimento (Tabla 4.13), lo cual podría haber explicado en parte el buen crecimiento de los camarones en este tratamiento.

Posiblemente la abundancia de copépodos y rotíferos en BFT/S también haya podido influenciar en la alta supervivencia debido a que estos organismos poseen un alto

porcentaje de lípidos y proteínas (Drillet *et al.*, 2006). Dado que los copépodos calanoides serían presas más difíciles de capturar por el camarón, es probable que la mayor presencia de copépodos harpacticoides en BFT/S fueron más fáciles de ser capturados, debido a que estos poseen una distribución epibentónica al igual que los camarones (Giere, 2008). Además de ser ricos en proteínas, estos organismos son capaces de bioconvertir los ácidos grasos de cadena n-3 en EPA y DHA, lo que los hace interesantes nutricionalmente (De Lima *et al.*, 2013).

4.4. Análisis proximal

4.4.1. Bioflocs

La composición nutricional de los bioflocs varía dependiendo de las fuentes de carbohidrato utilizado, la estructura de la comunidad microbiana, condición del cultivo, intensidad de la mezcla de agua, etc. (Ballester *et al.*, 2010; Crab *et al.*, 2010a).

Según el análisis proximal de los bioflocs en los tratamientos de BFT y BFT/S de este estudio (Tabla 4.15), el contenido lipídico fue menor al obtenido por otros autores (Tabla 2.6), mientras que los valores de proteína fueron similares a los obtenidos por Ballester *et al.* (2010) y Xu & Pan (2012) en donde se manejaba una relación de 20:1 adicionando melaza y sacarosa respectivamente.

Tabla 4.15. Análisis proximal del biofloc en los tratamientos con tecnología de bioflocs.

Parámetros	Tratamientos ¹	
	BFT	BFT/S
Humedad	90.24 ^b	90.03 ^a
Proteína	30.67 ^b	35.22 ^a
Lípidos	0.29 ^b	0.33 ^a
Ceniza	23.71 ^b	26.65 ^a

¹Valores obtenidos en cada tratamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de *t* de Student ($P < 0.05$).

BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

Por otro lado, Liu *et al.* (2014) y Anand *et al.* (2014) obtuvieron un menor contenido proteico (24% y 24.3% utilizando almidón de maíz y harina de trigo). Según Crab *et al.* (2010b), esto podría deberse a que fuentes de carbono de cadena corta como el acetato y glicerol propician el crecimiento celular de algunas especies de bacterias mejorando el contenido proteico de los bioflocs, mientras que fuentes de carbono complejas como la harina de maíz promueve el crecimiento de bacterias que producen mayores cantidades de exopolisacáridos. Una baja relación de C/N así como una deficiente mezcla de agua, puede estar asociado a una menor composición proteica (Liu *et al.*, 2014). De esta manera, estos hallazgos estarían indicando que tanto la aireación en los sistemas con tecnología de bioflocs, la relación C/N y la fuente de carbono elegida fueron adecuadas para propiciar bioflocs ricos en proteína (Crab *et al.*, 2012).

Se encontraron diferencias significativas en cuanto al contenido de proteínas, lípidos y cenizas en los bioflocs del tratamiento BFT y BFT/S, siendo más elevados en BFT/S (Tabla 4.15). De acuerdo con Ballester *et al.* (2010), el perfil nutricional en los bioflocs está asociado a la diferente composición de microorganismos que los hayan conformado. Según Silva *et al.* (2008) los nemátodos contienen un alto porcentaje de proteína, las bacterias heterotróficas son ricas en lípidos, y tanto las diatomeas como cianobacterias y protozoos aportan en proteínas y lípidos. Por otro lado, los copépodos contienen un alto contenido proteico (44 - 52%) y buen perfil de aminoácidos, con la excepción de metionina e histidina (Lavens & Sorgeloos, 1996). El mayor contenido de cenizas en los bioflocs de BFT/S estaría indicando una mayor abundancia de minerales y elementos traza a consecuencia de la mejor calidad microbiana, o también por la mayor cantidad de restos de exoesqueleto producto de la muda (Tacon *et al.*, 2002). La colecta para hacer el análisis proximal se realizó un día antes de la última colecta de plancton, por lo que se podría relacionar lo encontrado ese día con estos resultados. Si bien BFT/S tuvo menos abundancia de diatomeas y cianobacterias en el fitoplancton, la mayor abundancia principalmente de copépodos y protozoos en este tratamiento podrían haber influenciado en su mejor composición proximal. Sin embargo, aún se requieren de otros estudios que comparen la evolución proteica y lipídica conforme ocurre la sucesión microbiana, de manera que se pueda determinar qué grupo de microorganismos contribuyen más en la calidad nutricional de los bioflocs (Ballester *et al.*, 2010).

4.4.2. Camarones

El camarón *M. rosenbergii* contiene una gran cantidad de constituyentes orgánicos e inorgánicos. Los principales son las proteínas, lípidos y carbohidratos. Incluso, estos camarones contienen una significativa proporción de minerales (Ca, P, Mg, Mn y Cl) y vitaminas (A, C y D) (Abulude *et al.*, 2006). El contenido de humedad, lípidos, proteínas y cenizas son buenos indicadores de la condición fisiológica del organismo (Saravana Bhavan, 2010). Sin embargo, los valores varían considerablemente de acuerdo al tamaño, sexo, estadio, alimentación, actividad física, reproductiva, etc. (Rosa & Nunes, 2003; Nargis, 2006). Por lo tanto, tanto estas características propias de cada organismo como las condiciones de cada tratamiento evaluado pudieron haber afectado la composición proximal de camarones muestreados.

Existen ciertas relaciones entre los componentes, tal es el caso de la humedad, el cual guarda relación con el contenido de proteínas y lípidos. Cuanto menor sea el porcentaje de agua, mayor serán los contenidos de lípidos y proteínas (Dempson *et al.*, 2004), relación inversa que se puede verificar claramente en ST/S y ST (Tabla 4.16).

Tabla 4.16. Análisis proximal de los camarones al final del cultivo.

Parámetros	Tratamientos ¹			
	ST	ST/S	BFT	BFT/S
Humedad	71.60 ^d	75.40 ^a	74.22 ^b	74.09 ^c
Proteína	54.35 ^a	52.43 ^d	53.27 ^c	53.72 ^b
Lípidos	9.52 ^b	8.37 ^d	9.14 ^c	10.44 ^a
Ceniza	16.44 ^b	17.46 ^a	16.36 ^c	15.36 ^d

¹ Valores obtenidos en cada tratamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

ST= Sistema tradicional; ST/S= Sistema tradicional con sustrato; BFT= Sistema con tecnología de bioflocs; BFT/S= Sistema con tecnología de bioflocs y sustrato.

Por otro lado, según Amer *et al.* (1991) y Saravana Bhavan (2010), existe también una relación a nivel de sexo. Los machos contienen niveles más altos de cenizas y agua, mientras que las hembras tienen relativamente mayores cantidades de grasa, proteínas y

carbohidratos debido a la energía y nutrientes requeridos para fines reproductivos. La mayor composición de cenizas sugiere que los machos contienen un mayor contenido de minerales, mientras que el alto contenido de humedad se debe a la mayor masa corporal en comparación con las hembras. Los organismos provenientes del tratamiento con ST y BFT/S poseían el mayor contenido proteico y lipídico (Tabla 4.16), ello probablemente porque los camarones muestreados en estos tratamientos fueron en su mayoría hembras (5 de 9 camarones). Por otro lado, el tratamiento ST/S obtuvo el mayor porcentaje de humedad y cenizas, posiblemente porque predominaron los machos (7 de 9 camarones, de los cuales 3 eran PA). En BFT se encontraron 8 camarones machos (4 eran PA), pero aparentemente existirían otros factores influyendo en su composición proximal ya que no se observó la misma relación que en ST/S entre el sexo y el contenido proteico y lipídico.

Si bien en el tratamiento ST se observó un buen porcentaje proteico, lipídico y de cenizas, mostrando aparentemente una buena condición fisiológica, fue en este tratamiento donde se observó la mayor mortalidad y mayor número de organismos *no saludables* lo cual podría estar indicando que posiblemente estos valores se debieron al canibalismo (Silva *et al.*, 2008). En el caso de los camarones provenientes del tratamiento BFT/S y BFT quienes contenían mayor proteína que ST/S, posiblemente se deba al consumo de bioflocs que poseía un alto porcentaje proteico (Tabla 4.15).

En cuanto a lípidos, los camarones de BFT/S tuvieron el mayor contenido lipídico, seguido por ST, BFT y ST/S (Tabla 4.16). Según Pérez-Fuentes *et al.* (2013), los camarones tienen una fuerte preferencia por el alimento natural, probablemente por una mejor digestibilidad comparada con dietas comerciales. Por lo tanto, es posible que el consumo de bioflocs haya contribuido con una mejor nutrición y eficiencia alimenticia. Además, debido a la disponibilidad de bioflocs en todo el sistema, se disminuyó el consumo de energía en la búsqueda y competencia por el alimento. No se realizó un análisis del contenido estomacal que compruebe el consumo de bioflocs, no obstante, se observó el consumo del perifiton formado por bioflocs en las boyas de tecnopor las cuales servían para localizar los comederos (Anexo 8).

Dado que existe una gran diversidad de factores que podrían haber influido en la composición proximal de los camarones analizados, aún se requieren de mayores estudios en los que se analicen a todos los individuos que conforman la población y de acuerdo a su

sexo y tamaño, para poder inferir con mayor precisión los efectos que podría tener la implementación de substratos y bioflocs en la composición proximal de estos organismos.

V. CONCLUSIONES

- Los sistemas tradicionales (con y sin sustrato) demostraron un mayor crecimiento y ganancia de peso pero menor supervivencia para el cultivo de *M. rosenbergii*.
- Los sistemas con BFT (con y sin sustrato) fueron los mejores para obtener una mayor supervivencia, demostrando que su implementación permite el cultivo de *M. rosenbergii* en altas densidades.
- El uso de sustratos artificiales, tanto en sistemas tradicionales como con BFT, permitieron mejorar la calidad de agua al disminuir las concentraciones de compuestos nitrogenados y fósforo, y también mejoraron la productividad y supervivencia de *M. rosenbergii* debido a la presencia del fito y zooperifiton, por lo que su implementación en ambos sistemas resulta beneficioso.
- El uso de BFT afectó significativamente la composición y abundancia del zooplancton, dado por la mayor presencia de protozoos y rotíferos quienes están asociados a ambientes ricos en nutrientes.
- La evaluación de la composición nutritiva de los bioflocs demostró que su consumo contribuiría a un mejor perfil nutricional del camarón así como a una mejor supervivencia.

VI. RECOMENDACIONES

- Debido a las oscilaciones del NAT en los sistemas con tecnología de bioflocs, es recomendable iniciar con un sistema BFT ya maduro en donde los parámetros del agua se encuentren ya estabilizados.
- La densidad de cultivo utilizada en este experimento tuvo un efecto negativo en la ganancia de peso y tasa de crecimiento en los tratamientos con BFT, por lo tanto se recomienda que en una futura investigación se analicen diferentes densidades para determinar hasta qué densidad y capacidad de carga es posible llegar, asegurando el buen desempeño productivo de los camarones en estos sistemas.
- La predominancia de cianobacterias en todos los tratamientos podría haber sido un riesgo para el cultivo de *M. rosenbergii*, por lo tanto es recomendable que desde un inicio los sistemas se fertilicen con nitrato de sodio y metasilicato de sodio para fomentar el crecimiento y predominancia de las diatomeas. Incluso, también se podría hacer una inoculación inicial con estas microalgas.
- Se recomienda hacer un seguimiento semanal del crecimiento de las comunidades que componen el alimento natural (plancton, bentos y perifiton), incluyendo bacterias, para hacer una evaluación más detallada de la sucesión ecológica de los diferentes microorganismos involucrados y relacionarlo con los parámetros físico-químicos del agua.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Abreu, PC; Ballester, EC; Odebrecht, C; Wasielesky, W; Cavalli, RO; Granéli, W; Anésio, AM. 2007. Importance of biofilm as food source for shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) evaluated by stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$). *Experimental Marine Biology and Ecology*, 347: 88-96.

Abulude, FO; Lawal, LO; Ehikhamen, G; Adesanya, WO; Ashafa, SL. 2006. Chemical composition and functional properties of some prawns from the coastal area of Ondo state, Nigeria. *Electron Journal of Environment, Agriculture and Food Chemistry*, 5:1235-1240.

Amer, HA; Sedik, MF; Khalafalla, FA; Abd El-Ghany Awad, H. 1991. Results of chemical analysis of prawn muscle as influenced by sex variations. *Molecular Nutrition and Food Research*, 35:133-138.

Anand, PSS; Kohli, MPS; Kumar, S; Sundaray, JK; Roy, SD; Venkateshwarlu, G; Pailan, GH. 2014. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 418-419:108-115.

Ang, KJ; Law, YK. 1991. Fecundity changes in *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) during egg incubation. *Aquaculture and Fisheries Management*, 22:1-6.

AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 15th Edition. AOAC International, Gaithersburg, MD.

APHA (American Public Health Association). 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19th Edition. Washington, DC.

Asaduzzaman, M; Wahab, MA; Verdegem, MCJ, Azim, ME; Haque, S; Salam, MA. 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, Ma; Verdegem, MCJ; Benerjee, S; Akter, T; Hasan, MM; Azim, ME. 2009. Effects of addition of tilapia *Oreochromis niloticus* and substrates for periphyton developments on pond ecology and production in C/N-controlled freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming systems. *Aquaculture*, 287(3-4):371-380.

Asaduzzaman, M; Rahman, MM; Azim, ME; Islam, MA; Wahab, MA; Verdegem, MCJ; Verreth, JAJ. 2010. Effects of C/N ratio and substrate addition on natural food communities in freshwater prawn monoculture ponds. *Aquaculture*, 306(1-4):127-136.

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

Avnimelech, Y. 2009. *Biofloc Technology - A Practical Guide Book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States, 182 p.

Azim, ME; Verdegem, MCJ; Singh, M; van Dam, AA; Beveridge, MCM. 2003. The effects of periphyton substrate and fish stocking density on water quality, phytoplankton, periphyton and fish growth. *Aquaculture Research*, 34:685-695.

Azim, ME, Wahab, MA. 2005. Periphyton-based pond polyculture. In: Azim, ME; Verdegem, MCJ; van Dam, AA; Beveridge, MCM (eds) *Periphyton: Ecology, Exploitation and Management*. CABI Publishing, UK, p. 207-222.

Balech, E; Ferrando, HJ. 1964. *Ecología marina*. Ed. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, 157 p.

Ballester, ELC; Wasielesky, W; Cavalli, RO; Abreu, PC. 2007. Nursery of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: Biofilm composition and shrimp performance. *Aquaculture*, 269 (1-4):355-362.

Ballester, ELC; Abreu, PC; Cavalli, R; Emerenciano, MM; Wasielesky Jr., W. 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*, 16 (2):163-172.

Becerra-Dórame, MJ; Martínez-Porchas, M; Martínez-Córdova, LR; Rivas-Vega, ME; Lopez-Elias, JA; Porchas-Cornejo, MA. 2012. Production Response and Digestive Enzymatic Activity of the Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) intensively pregrown in Microbial Heterotrophic and Autotrophic-Based Systems. *The Scientific World Journal*, 2012 (2012):723654.

Blomqvist, P; Olsson, H; Olofsson, H; Broberg, O. 1989. Enclosure experiments with low-dose additions of P and N in the acidified lake Njupfatet, Central Sweden. - *Int. Rev. Gesamt. Hydrobiol.*, 74: 611-631.

Boyd, CE, Zimmermann, S. 2000. Grow out systems - Water quality and soil management. In: *Freshwater Prawn culture (The farming of *Macrobrachium rosenbergii**, Eds. New, MB and Valenti, WC), 221-238 p.

Boyd, CE. 2003. Fertilizantes químicos na aquicultura de viveiros. *Revista da ABCC*, Recife, 5 (3): 79-81.

Boyd, C; Zimmermann, S. 2010. Grow-out Systems – Water Quality and Soil Management. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), *Freshwater Prawns. Biology and Farming*. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 108-126.

Boyer, JN; Dailey, SK; Gibson, PJ; Rogers, MT; Mir-Gonzalez, D. 2004. The Importance of Organic Phosphorus in Promoting Cyanobacterial Blooms in Florida Bay: Competition Between Bacteria and Phytoplankton. Southeast Environmental Research Center, OE-148, Florida International University, Miami, Final Report for NOAA.

Bratvold, D; Browdy, CL. 2001. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture*, 195(1-2): 81-94.

Brito, LO; Arantes, R; Magnotti, C; Demer, R; Pcharra, F; Olivera, A; Vinatea, L. 2013. Water quality and growth of Pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in co-culture with green seaweed *Ulva lactuca* (Linnaeus) in intensive system. *Aquaculture International*, 22 (2): 497-508.

Brown, K; Twing, KI; Robertson, DL. 2009. Unraveling the regulation of nitrogen assimilation in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae): Diurnal variations in transcript levels for five genes involved in nitrogen assimilation. *Journal of Phycology*, 45:413-426.

Brown, JH; New, MB; Ismael, D. 2010. Biology. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), *Freshwater Prawns. Biology and Farming*. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 18-39.

CABI (Cookies on Invasive Species Compendium). 2016. *Macrobrachium rosenbergii*. In: *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CABI International. www.cabi.org/isc.

Castellví, J; Cervigón, F; Díaz-Piferrer. 1972. *Ecología Marina*. Ed. Fundación La Salle de Ciencias naturales, Caracas, 562 p.

Chen, J-C; Kou, T-T. 1996. Effects of temperature on oxygen consumption and nitrogenous excretion of juvenile *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 145(1-4): 295-303.

CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental). 2005. *Determinação de fitoplâncton de água doce: métodos qualitativo e quantitativo - método de ensaio*, São Paulo, 23 p.

Correia, ES. 1998. *Influência da alimentação natural no cultivo semi-intensivo do camarão de água doce Macrobrachium rosenbergii (de Man, 1879)*. Tese de posgrado. São Paulo: Universidade Federal de São Carlos. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais; 136 p.

Correia, ES; Pereira, JA; Apolinário, MO; Horowitz, A; Horowitz, S. 2002. Effect of pond aging on natural food availability and growth of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquacultural Engineering*, 26: 61-69.

Correia, ES; Pereira, JA; Silva, AP. 2003. Growout of Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* in Fertilized Ponds with Reduces Levels of Formulated Feed. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34(2): 184-19.

Coyle, SD; Dasgupta, S; Tidwell, JH; Van Arnum, A; Bright, LA. 2003. Effects of stocking density on nursery production and economics of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Applied Aquaculture*, 14(1/2):137-48.

Coyle, SD; Alston, ED; Sampaio, CMS. 2010. Nursery systems and management. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), *Freshwater Prawns. Biology and Farming*. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 108-126.

Crab, R; Kochba, M; Verstraete, W; Avnimelech, Y. 2009. Bioflocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquacultural Engineering*, 40:105-112.

Crab, R. 2010a. Bioflocs Technology: an integrated system for the removal of nutrients and simultaneous production of feed in aquaculture. PhD Thesis, Ghent University, 178 p.

Crab, R; Chielens, B; Wille, M; Bossier, P; Verstraete, W. 2010b. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*, 41:559-567.

Crab, R; Defoirdt, T; Bossier, P; Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356-357: 351-356.

D'Abramo, LR; New, MB. 2010. Nutrition, Feeds and Feeding. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), *Freshwater Prawns. Biology and Farming*. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 218-236.

Daniels, WH; Cavalli, RO; Smullen, RP. 2010. Broodstock Management. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), *Freshwater Prawns. Biology and Farming*. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 40-54.

De Lima, LCM; Navarro, DMAF; Souza-Santos, LP. 2013. Effect of diet on the fatty acid composition of the copepod *Tisbe biminiensis*. *Journal of Crustacean Biology*, 33(3):372-381.

De Schryver, P; Crab, R; Defoirdt, T; Boon, N; Verstraete, W. 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277:125-137.

Dempson, IB; Schwarz, CJ; Sbears, M; Furey, G. 2004. Comparative proximate body composition of Atlantic salmon with emphasis on parr from fluvial and lacustrine habitats. *J. Fish Biol.*, 64:1257-1271.

Diana, JS; Szyper, JP; Batterson, TR; Boyd, CE; Piedrahita, RH. 1997. Water quality in ponds. In: Egna, HS; Boyd, CE (Eds), *Dynamics of pond aquaculture*. CRC press LLC, p. 53-72.

Drillet, G; Jorgensen, NOG; Sorensen, TF; Ramlov, H; Hansen, BW. 2006. Biochemical and technical observations supporting the use of copepods as live feed organisms in marine larviculture. *Aquaculture Research*, 37:756-772.

Dolman, AM; Rücker, J; Pick, FR; Fastner, J; Rohrlack, T; Mischke, U; Wiedner, C. 2012. Cyanobacteria and Cyanotoxins: The Influence of Nitrogen versus Phosphorus. *PLoS ONE* 7(6): e38757.

Ebeling, JM; Timmons, MB; Bisogni, JJ. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 257: 346-358.

Emereciano, M; Ballester, ELC; Cavalli, RO; Wasielesky, W. 2011. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*:

Growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. *Aquaculture International*, 19(5):891-901.

Emerenciano, M; Gaxiola, G; Cuzon, G. 2013. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. In *Biomass Now – Cultivation and Utilization*, Intech, p. 301-328.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2009. *Fishstat Plus* (v. 2.32). FAO, Roma, Italia.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2012. *Estado mundial de la pesca y acuicultura 2012*. Departamento de Pesca y Acuicultura, Roma, Italia.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2014. *Estado mundial de la pesca y acuicultura 2014*. Departamento de Pesca y Acuicultura, Roma, Italia.

Focht, DD; Verstraete, W. 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. In: Alexander, M. (Ed.), *Advances in Microbial Ecology*, vol. 1. Plenum, New York, 135-214 p.

Ferreira-Marinho, Y; Brito, LO; Figueiredo da Silva, CV; Sobral dos Santos, IG; Olivera, A. 2014. Effect of addition of *Navicula* sp. on plankton composition and postlarvae growth of *Litopenaeus vannamei* reared in culture tanks with zero water exchange. *Lat. Am. J. Aquat*, 42: 427-437.

Fitch, MW; Pearson, N; Richards, G; Burken JG. 1998. Biological fixed-film systems. *Water Environ. Res.* 70: 495-518.

Furtado, PS; Poersch, LH; Wasielesky, W. 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*, 321(1-2): 130-135.

Giere, O. 2008. Meiobenthology - The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments. Springer Verlag, Berlín, 538 p.

Glencross, BD; Booth, M; Allan, GL. 2007. A feed is only as good as its ingredients - a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture. *Aquaculture Nutrition*, 13: 17-34.

Haque, MR; Islam, MA; Rahman, MM; Shirin, MF; Wahab, MA; Azim, ME. 2013. Effects of C/N ratio and periphyton substrates on pond ecology and production performance in giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) and tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) polyculture system. *Aquaculture Research*, 2013:1-17.

Hargreaves, JA. 2013. Biofloc Production System for Aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Mississippi, US. Consultado 2 de set. 2015. Disponible en: http://www.aces.edu/dept/fisheries/aquaculture/documents/srac4503_000.pdf

Hartnoll, RG. 1982. Growth in the Biology of crustacean. Embryology, Morphology and Genetics, 2:111-96.

Hoek, C; Mann, D; Jahns, HM. 1995. *Algae: An Introduction to Phycology*. 1^a Ed. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 623p.

Hummel, CG. 1986. Effects of high pH on the mortality of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) postlarvae in green and clear water. M.Sc. Tesis, University of Puerto Rico, Mayaguez.

Ismael, D; New, MB. 2000. Biology. In: New, M.B. and Valenti, W.C. (eds). *Freshwater Prawn Culture: The farming of *Macrobrachium rosenbergii**. Blackwell Science Ltd., p. 18-40.

Ju, ZY; Forster, IP; Conquest, L; Dominy, W; Kuo, WC; Horgen, D. 2008a. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research*, 39:119-133.

- Ju, ZY; Forster, IP; Conquest, L; Dominy, W. 2008b. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition*, 14: 533-543.
- Karplus, I; Hulata, G; Ovadia, D; Jaffe, R. 1992. Social control of growth in *Macrobrachium rosenbergii*. The role of claws in bull-runt interactions. *Aquaculture*, 105: 281-96.
- Karplus, E. 2005. Social control of growth in *Macrobrachium rosenbergii* (De Man): A review and prospects for future research. *Aquaculture Research*, 36(3): 238-254.
- Karplus, I; Sagi, A. 2010. The Biology and Management of Size Variation. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), *Freshwater Prawns. Biology and Farming*. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 108-126.
- Krebs, CJ. 1972. *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. Harper & Row, New York.
- Kuhn, DD; Lawrence, AL; Boardman, GD; Patnaik, S; Marsh, L; Flick, GJ. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 303, 28-33.
- Langis, R; Proulx, D; de la Noue, J; Couture, P. 1988. Effects of bacterial biofilm on intensive *Daphnia* culture. *Aquacultural Engineering*, 7:21-38.
- Lavens, P; Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Rome, FAO. 295p.
- Lee, C-S; O' Bryen, PS; Marcus, NH. 2005. *Copepods in aquaculture*. 1^a Ed. Blackwell publishing, Hawaii, USA, 269 p.
- Ling, SW. 1969. The general biology and development of *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan). *FAO Fisheries Report*, 57(3):589-606.

Liu, L; Hu, Z; Dai, X; Avnimelech, Y. 2014. Effects of addition of maize starch on the yield, water quality and formation of bioflocs in an integrated shrimp culture system. *Aquaculture*, 418-419: 79-86.

Loureiro, KC; Wilson, WJ; Abreu, PC. 2012. Utilização de protozoários, rotíferos e nematódeos como alimento vivo para camarões cultivados no sistema BFT. *Atlântica*, Rio Grande, 34(1): 5-12.

Mallasen, M; Valenti, WC; Ismael, D. 2003. Effects of nitrate concentration on larval development of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *Journal of Applied Aquaculture*, 14(3/4): 55-69.

Mallasen, M; Valenti, WC. 2005. Larval development of the giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* at different ammonia concentrations and pH values. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36:32-41.

Margalef, R. 1974. *Ecologia*. Ed. Omega, Barcelona, 951 p.

Mather, PB; de Bruyn, M. 2003. Genetic diversity in wild stocks of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*): Implications for aquaculture and conservation. *NAGA. WorldFish. Center Quarterly*, 26 (4):4-7.

Matz, C; Kjelleberg, S. 2005. Off the hook - how bacteria survive protozoan grazing. *Trends Microbiol.*, 13 (7): 302-307.

Mauchline, J. 1977. The integumental sensilla and glands of pelagic crustacean. *Journal of Marine Biology. Ass, U.K.* 57: 973-994.

Milstein, A.1993. Water quality and freshwater fish culture intensification: the Israeli example. *Aquaculture and Fisheries Management*, 24: 715-724.

Milstein, A; Azim, ME; Wahab, MA; Verdegem, MCJ. 2003. The effects of periphyton fish and fertilizer dose on biological processes affecting water quality in earthen fish ponds. *Environmental Biology of Fishes*, 68: 247-260.

Muir, JF; Lombardi, JV. 2010. Grow-out systems - site selection and pond construction. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), *Freshwater Prawns. Biology and Farming*. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 127-153.

Nargis, R. 2006. Seasonal variation in the chemical composition of body flesh of koi fish *Anabas testudineus* (Block) (Anabantidae, Perciformes). *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.*, 4: 219-226.

Nelson, SG; Armstrong, DA; Knight, AW; Li, HW. 1977. The effects of temperature and salinity on the metabolic rate of juvenile *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Palaemonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 56A:553-557.

Nhan, DT. 2009. Optimization of Hatchery protocols for *Macrobrachium rosenbergii* culture in Vietnam. PhD thesis, Ghent University, Belgium, p. 265.

New, MB; Singholka, S. 1985. Freshwater prawn farming. A manual for the culture of *Macrobrachium rosenbergii*. FAO Fisheries Technical Paper 225 (Rev 1). FAO, Rome, Italy.

New, MB; Valenti, WC. 2000. Freshwater Prawn Culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell Science Ltd., United Kingdom, 443 p.

New, MB. 2002. Farming freshwater prawn. A manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). FAO Fisheries Technical Paper 428. FAO, Rome, Italy.

New, MB. 2004. Programa de información de especies de acuáticas. *Macrobrachium rosenbergii*. En: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO, Roma, Italia.

New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR; Kutty, MN. 2010. Freshwater prawns biology and farming. 1. Ed. New Delhi, IN, Wiley-Blackwell.570 p.

Nogueira, R; Lazarova, V; Manem, J; Melo, LF. 1998. Influence of dissolved oxygen on the nitrification kinetics in a circulating bed biofilm reactor. *Bioprocess Eng.* 19, 441.

Pandey, PK; Bharti, V; Kumar, K. 2014. Biofilm in aquaculture production. African Journal of Microbiology Research, 8(13): 1434-1443.

Panjaitan, P. 2010. Shrimp culture of *Penaeus monodon* with zero water exchange model (ZWEM) using molasses. Journal of Coastal Development, 14 (1): 35-44.

Peebles, JB. 1978. Molting and mortality in *Macrobrachium rosenbergii*. Proceedings of the World Mariculture Society, 9: 39-46.

Peebles, JB. 1979. The role of prior residence and relative size in competition for shelter by the Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Fishery Bulletin, 76: 905-11.

Peñaflorida, VD. 1999. Interaction between dietary levels of calcium and phosphorus on growth of juvenile shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture, 172: 281-289.

Pérez, AJD. 2010. Aplicación y evaluación de un reactor de contactores biológicos rotativos (RBC o biodiscos), a escala de laboratorio como tratamiento de los lixiviados generados en el relleno sanitario de la Pradera. Tesis de Maestría Ingeniería Urbana, Facultad de Ingenierías, Universidad de Medellín, Medellín, 259 p.

Pérez-Fuentes, JA; Pérez-Rostro, CI; Hernández-Vergara, MP. 2013. Pond-reared Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii* with biofloc system. Aquaculture, 400 (401): 105-110.

Pereira Neto, JB; Dantas, DMM; Gálvez, AO; Brito, LO. 2008. Avaliação das comunidades planctônica e bentônica de microalgas em viveiros de camarão (*Litopenaeus vannamei*). B. Inst. Pesca São Paulo, 34(4): 543-551.

Poli, MA; Schweitzer, R; Nuñez, APO. 2015. The use of biofloc technology in a South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: Effect of suspended solids in the performance of larvae. Aquacultural Engineering, 66:17-21.

Prajith, KK. 2011. Application of biofloc technology in the primary nursery rearing of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* in varying stocking density: effect on

animal welfare and seed quality. PhD Thesis. Kochi: Cochin University of Science and Technology, 224 p.

Prasuna Devi, DV; Hareesh, K; Srinivasulu Reddy, M. 2015. Studies on the Proximate Composition of Tropical Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 3(1): 329-336.

PRODUCE (Dirección General de Acuicultura, Ministerio de Producción). 2016. Ficha de las principales especies cultivadas en el Perú.

Ramesh, MR; Shankar, KM; Mohan, CV; Varghese, TJ. 1999. Comparison of three plant substrates for enhancing carp growth through bacterial biofilm. Aquaculture Engineering, 19: 119-131.

Ray, AJ; Lewis, BL; Browdy, CL; Leffler, JW. 2010. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. Aquaculture, 299(1-4): 89-98.

Ridha, MT; Cruz, EM. 2001. Effect of biofilter media on water quality and biological performance of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* reared in a simple recirculating system. Aquacultural Engineering, 24:157-166.

Rode, R. 2014. Marine Shrimp Biofloc Systems: Basic Management Practices (en línea). Purdue Extension. Indiana, US. Consultado 3 de set. 2015. Disponible en <https://extension.purdue.edu/extmedia/FNR/FNR-495-W.pdf>

Rodrigues, JBR; Rodrigues, CCB; Macchiavello, JG; Gomes, SZ; Beirão, LH. 1991. Manual de cultivo do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* na região sul do Brasil. Florianópolis: ACARESC, 76 p.

Rogers, GL; Fast, AW. 1988. Potential benefits of low energy water circulation in Hawaiian prawn ponds. Aquacultural Engineering, 7:155-65.

Rosa, R; Nunes, ML. 2003. Biochemical composition of deep-sea decapod crustaceans with two different benthic life strategies of the Portuguese south coast. *Deep-Sea Res.*, 50:119-130.

Round, FE; Crawford, RM; Mann, DG. 1990. *The Diatoms, Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press, 747 p.

Sampaio, CMS. 1995. Otimização do manejo alimentar de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) (Crustacea, Palaemonidae) com ração balanceada, durante a fase de berçário I. PhD Dissertation (Doutorado em Aquicultura), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Sandifer, PA; Smith, TIJ. 1985. Freshwater prawns. In *Crustacean and Mollusk Aquaculture in the United States*, (Ed. by J.V.Huner & E.E. Brown), AVI Publishing, Westport, CT, p. 63-125.

Sandifer, PA; Theodore, IJS. 1985. Freshwater Prawns. In: Huner, J.V. and Brown, EE. (eds). *Crustacean and Mollusk Aquaculture in the United States*. Van Nostrand Reinhold, New York, USA, 63-125.

Saravana Bhavan, P; Radhakrishnan, S; Seenivasan, C; Shanthi, R; Poongodi, R; Kannan, S. 2010. Proximate Composition and Profiles of Amino Acids and Fatty Acids in the Muscle of Adult Males and Females of Commercially Viable Prawn Species *Macrobrachium rosenbergii* Collected from Natural Culture Environments. *International Journal of Biology* 2(2):107-119.

Schroeder, GL.1983. Sources of fish and prawn growth in polyculture ponds as indicated by C analysis. *Aquaculture* 35: 29-42.

Schveitzer, R; Arantes, R; Baloi, MF; Costódio, PF; Vinatea, L; Quadros, W; Andreatta, ER. 2013. Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. *Aquacultural Engineering*, 54: 93-103.

Silva, CF; Ballester, E; Monserrat, J; Geracitano, L; Wasielesky, W. Jr; Abreu, PC. 2008. Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: protein and lipid contents. *Aquaculture Nutrition*, 14: 507-514.

Smith, TIJ; Sandifer, PA. 1975. Increased production of tank reared *Macrobrachium rosenbergii* through use of artificial substrates. *Proceedings of the World Mariculture Society*, 6:55-66.

Singh, S. 2011. Freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan, 1879) (Crustacea: Decapoda) aquaculture in Fiji: Improving culture stock quality. Master Thesis in Marine Science, University of the South Pacific, Suva, Fiji, 89 p.

Stanford, C. 1999. A guide to phytoplankton of aquaculture ponds. Queensland, Australia, 59 pp.

Strauss, DL; Robinette, HR; Heinen, JM. 1991. Toxicity of un-ionized ammonia and high pH to post-larval and juvenile freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. *Proceedings of the World Aquaculture Society*, 22:128-133.

Supamattaya, K; Kiriratnikoma, S; Boonyaratpalin, M; Borowitzka, L. 2005. Effect of a *Dunaliella* extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 248: 207-216.

Tacon, AGJ. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación (FAO), Roma, Italia.

Tacon, AGJ; Cody, J; Conquest, L; Divakaran, S; Forster, IP; 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*, 8:121-137.

Tidwell, JH; Coyle, SD; Webster, CD; Sedlacek, JD; Weston, PA; Knight, WL; Hill, SJ. Jr.; D' Abramo, LR; Daniels, WH; Fuller, MJ. 1997. Relative prawn production and benthic macroinvertebrate densities in unfed, organically fertilized, and fed pond systems. *Aquaculture*, 149: 227-242.

Tidwell, JH; Coyle, SD; Schulmeister, G. 1998. Effects of added substrate on the production and population characteristics of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* in ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29:17-22.

Tidwell, JH; Coyle, S; Durborow, RM; Dasgupta, S; Wurts, WA; Wynne, F; Bright, LA; Van Arnum, A. 2002. *KSU Prawn Production Manual*. Published by the Kentucky State University Aquaculture Program.

Tidwell, JH; Bratvold, D. 2005. Utility of added substrates in shrimp culture. In *Periphyton: Ecology, Exploitation and Management*. (Ed. by M.E. Azim, M.C.J. Verdegem, A.A. van Dam & M.C.M. Beveridge), CABI Publishing, Wallingford, 247-68.

Timmons, MB; Ebeling, JM; Wheaton, FW; Summerfelt, ST; Vinci, BJ. 2001. *Recirculating Aquaculture Systems*. Ithaca, New York: Cayuga Aqua Ventures, 769 p.

Thakur, DP, Lin, CK. 2003. Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Aquaculture Engineering*, 27:159-176.

Thompson, FL; Abreu, PC; Wasielesky, W. 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture, *Aquaculture*, 203:263-278.

Uddin, S; Azim, MEU; Wahab, A; Verdegem, MCJ. 2006. The potential of mixed culture of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) and freshwater giant prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in periphyton-based systems. *Aquaculture Research*, 37:241-7.

Uddin, S. 2007. *Mixed culture of tilapia (Oreochromis niloticus) and freshwater prawn (Macrobrachium rosenbergii) in periphyton based ponds*. University of Wageningen. The Netherlands.

Valenti, WC. 1989. Efeitos da densidade populacional sobre o cultivo do camarão *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan, 1879) no norte do Estado de São Paulo: análise quantitativa (Crustacea, Palaemonidae). PhD Thesis, Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Valenti, WC. 1990. Criação de camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii*. Em: Anais da 27 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia e 12 Reunião da Associação Latino-Americana de Produção Animal, 22-27 julho 1990, Campinas, p. 757-85. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), Piracicaba.

Valenti, WC. 1998. Sistemas de produção na fase de crescimento final. Em: Carcinicultura de Água Doce: Tecnologia para a Produção de Camarões, (Ed. by WC. Valenti), p. 165-77. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), São Paulo e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Brasília.

Valenti, WC. 2002. Criação de camarões de água doce. Em: Congresso de Zootecnia, 12vo, Vila Real, Portugal: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos. Anais, 229-237.

Valenti, WC; Daniels, WH; New, MB; Correia, ES. 2010a. Hatchery Systems and Management. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), Freshwater Prawns. Biology and Farming. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 55-85.

Valenti, WC; New, MB; Salin, KR; Jinyun, Y. 2010b. Grow-out Systems – Monoculture. In: New, MB; Valenti, WC; Tidwell, JH; D'Abramo, LR, Kutty, MN (Eds.), Freshwater Prawns. Biology and Farming. Blackwell Science, Oxford, UK, p. 154-179.

Van Dam, AA; Beveridge, MCM; Azim, ME; Verdegem, MCJ. 2002. The potential of fish production based on periphyton. Rev. Fish Biol. Fish, 12:1-31.

Viana de Lima, JP. 2007. Camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) sem renovação de água e sobre diferentes relações carbono/nitrogênio. Tese de posgrado. Recife, PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco. Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura; 77 p.

Verschuere, L; Rombaut, G; Sorgeloos, P; Verstraete, W. 2000. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64(4): 655-671.

Wasiolesky, W; Atwood, H; Kegl, R; Bruce, J; Stokes, A; Browdy, CL. 2006. Efeito do pH na sobrevivência e crescimento do camarão branco *Litopenaeus vannamei* em cultivos superintensivos. Aquacultura 2006. Anais do congresso. Whangchai.

Xu, W-J; Pan, L-Q. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. Aquaculture, 356-357: 147-152.

Zhukova, NV; Kharlamenko, VI. 1999. Sources of essential fatty acids in the marine microbial loop. Aquat. Microb. Ecol., 17: 153-157.

Ziemann, DA; Walsh, WA; Saphore, EG; Fulton-Bennet, K. 1992. A survey of water quality characteristics of effluent from Hawaiian aquaculture facilities. Journal of World Aquaculture Society, 23: 180-191.

Zimmermann, S. 1998. Manejo da fase de crescimento final. In: Valenti, W.C. (ed). Carcinicultura de Água Doce: Tecnologia para a Produção de Camarões. Fundação de Ampara à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), São Paulo e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Brasília, 191-215.

Zhang, B; Wenhui, L; Yajun, W; Xu, R. 2010. Effects of artificial substrates on growth, spatial distribution and non-specific immunity factors of *Litopenaeus vannamei* in the intensive culture condition. Turkish Journal of Fisheries and Aquatics Science, 10: 491-497.

Zhang, J; Chen, L; Dong, H; Duan, Y; Li, Z; Wen, G; Chen, J; Feng, Z; Xu, W; Xie, J. 2014. Artificial substrates in zero-water-exchange culture system regulate the rearing performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) under the winter indoor condition. Aquaculture Research, 1365-2109.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1. Concentración de amonio no ionizado (mg/L) de acuerdo a pH y T° en los diferentes tratamientos.

		Colectas									
Semana		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
UE											
ST-R1		0.114	0.121	0.077	0.010	0.003	0.006	0.001	0.025	0.003	0.017
ST-R2		0.078	0.092	0.091	0.016	0.006	0.006	0.002	0.003	0.004	0.019
ST-R3		0.082	0.075	0.101	0.019	0.004	0.017	0.001	0.030	0.003	0.013
ST/S-R1		0.093	0.055	0.043	0.013	0.001	0.008	0.000	0.010	0.001	0.004
ST/S-R2		0.041	0.039	0.046	0.022	0.008	0.006	0.000	0.012	0.001	0.007
ST/S-R3		0.069	0.048	0.032	0.003	0.008	0.006	0.000	0.011	0.001	0.005
BFT-R1		0.044	0.033	0.071	0.023	0.007	0.012	0.003	0.042	0.005	0.028
BFT-R2		0.046	0.051	0.069	0.075	0.014	0.020	0.003	0.042	0.005	0.026
BFT-R3		0.027	0.031	0.053	0.095	0.012	0.020	0.003	0.044	0.006	0.024
BFT/S-R1		0.043	0.035	0.053	0.027	0.004	0.011	0.003	0.035	0.005	0.043
BFT/S-R2		0.029	0.025	0.049	0.030	0.009	0.009	0.002	0.042	0.005	0.036
BFT/S-R3		0.022	0.017	0.050	0.049	0.015	0.018	0.003	0.062	0.005	0.065

ANEXO 2. Correlación de Pearson entre las variables de: peso, supervivencia, productividad, factor de conversión alimenticia (FCR), tasa de crecimiento (TC), tasa de crecimiento específica (TCE).

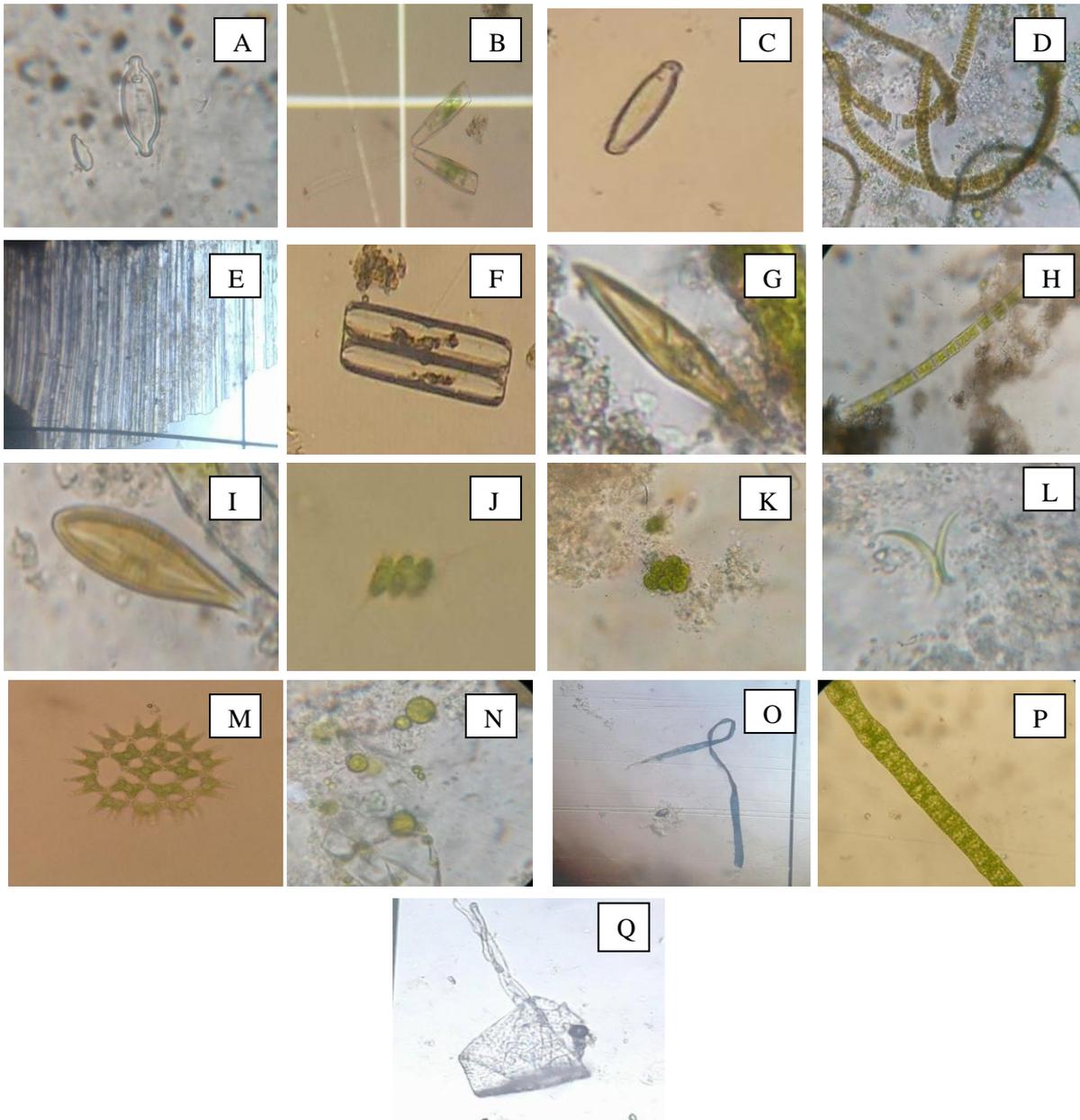
		PESO	SUPERVIV ENCIA	PRODUCTI VIDAD	FCR	TC	TCE
Peso	Correlación de Pearson	1	-,691*	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b
	Sig. (bilateral)		,013
	N	12	12	0	0	0	0
SUPERVIVE NCIA	Correlación de Pearson	-,691*	1	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b
	Sig. (bilateral)	,013	
	N	12	12	0	0	0	0
PRODUCTIV IDAD	Correlación de Pearson	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b
	Sig. (bilateral)
	N	0	0	0	0	0	0
FCR	Correlación de Pearson	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b
	Sig. (bilateral)
	N	0	0	0	0	0	0
TC	Correlación de Pearson	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b
	Sig. (bilateral)
	N	0	0	0	0	0	0
TCE	Correlación de Pearson	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b	. ^b
	Sig. (bilateral)
	N	0	0	0	0	0	0
<p>*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).</p> <p>b. No se puede calcular porque al menos una variable es constante.</p>							

Nota: Los datos utilizados son los promedios de cada réplica de cada tratamiento.

ANEXO 3. Formación y consumo de perifiton en el tratamiento ST/S.



ANEXO 4. Microalgas encontradas en fitoplancton, fitobentos y fitoperifiton.



Heterokontophyta: *Achnantes* sp (A) (100X), *Gomphonema* sp (B) (40X), *Navicula* sp (C) (40X), *Chaetoceros* sp (D) (40X), *Bacillaria* sp (E) (40X), *Pinnularia* sp (F) (40X), *Stauroneis* sp (G) (40X), *Melosira* sp (H) (40X), *Surirella* sp (I) (40X); Chlorophyta: *Scenedesmus* sp (J) (40X), *Botryococcus* sp (K) (40X), *Closterium* sp (L) (40X), *Pediastrum* sp (M) (40X), *Tetraspora* sp (N) (40X); Cyanophyta: *Oscillatoria* sp (O) (40X), *Phormidium* sp (P) (10X), *Merismopedia* sp (Q) (40X).

ANEXO 5. Lista de microalgas registradas en la columna de agua, sedimento y sustrato en los diferentes tratamientos.

División	Género	Grupo	Columna de agua ST, ST/S, BFT,BFT/S	Sedimento ST, ST/S	Sustrato ST/S, BFT/S
Heterokontophyta	<i>Achnantes</i>	B	Muy raro		
	<i>Amphora</i>	B	Común		
	<i>Bacillaria</i>	B	Muy raro		Muy raro
	<i>Chaetoceros</i>	P		Raro	
	<i>Coscinodiscus</i>	P	Muy raro	Común	Común
	<i>Cyclotella</i>	P	Común		
	<i>Fragilaria</i>	B		Muy raro	Raro
	<i>Gomphonema</i>	B	Muy raro	Raro	Común
	<i>Isocrysis</i>	P	Muy raro		
	<i>Melosira</i>	P		Común	Común
	<i>Navicula</i>	B	Muy raro	Común	Común
	<i>Phaeodactylum</i>	P		Común	Común
	<i>Pinnularia</i>	B		Común	Raro
	<i>Staurastrum</i>	P	Muy raro		
	<i>Stauroneis</i>	B		Raro	Raro
	<i>Surirela</i>	B		Raro	Raro
	<i>Synedra</i>	B	Muy raro	Común	Común
<i>Thalassiosira</i>	P	Muy raro	Común	Común	
Chlorophyta	<i>Botryococcus</i>	P,B	Muy raro	Muy raro	
	<i>Closterium</i>	P		Muy raro	
	<i>Pediastrum</i>	B	Raro	Común	Muy raro
	<i>Scenedesmus</i>	B	Muy raro	Común	Muy raro
	<i>Tetraspora</i>	P,B			Muy raro
Cyanophyta	<i>Aphanocapsa</i>	P	Común	Común	Común
	<i>Aphanizomenon</i>	P,B			Común
	<i>Dactylococcopsis</i>	P	Muy raro		
	<i>Gloeocapsa</i>	B			Común
	<i>Merismopedia</i>	P,B	Raro	Común	Muy raro
	<i>Oscillatoria</i>	P,B	Muy raro	Común	Común
	<i>Phormidium</i>	B		Común	Raro
	<i>Schizothrix</i>	B			Muy raro
Dinophyta	<i>Distigma</i>	P	Muy raro		
	<i>Scrippsiella</i>	B	Muy raro		
	<i>Peridinium</i>	P,B		Muy raro	

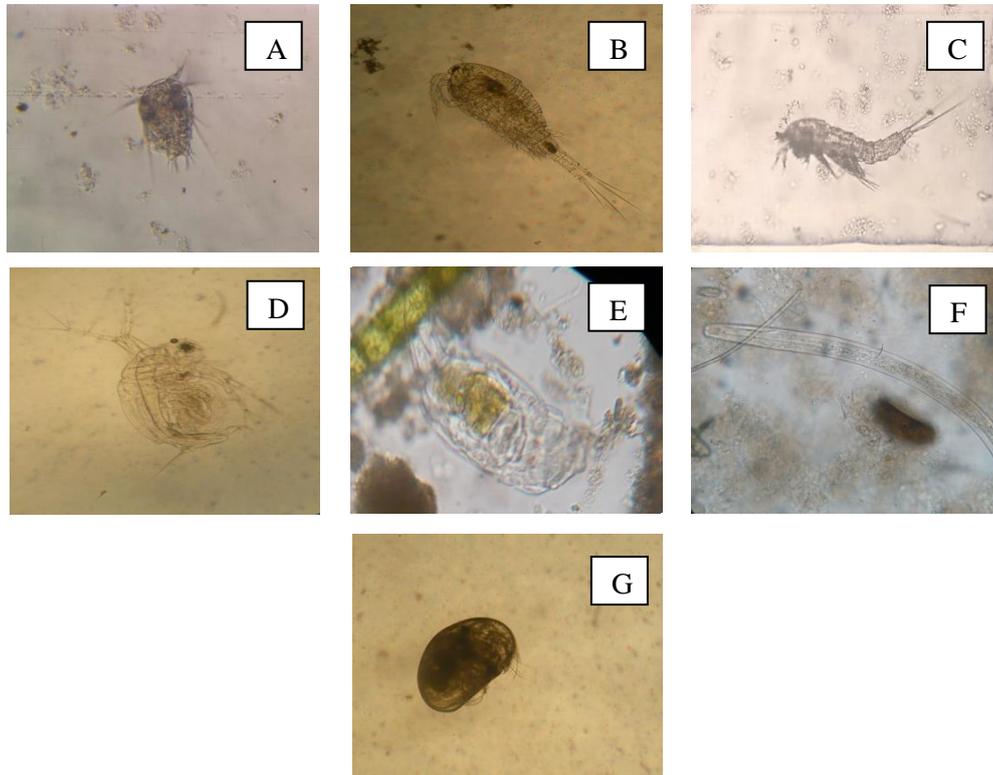
Nota: Códigos de grupo B: bentónico y P: pelágico; < 1% del total de abundancia de microalgas es muy raro; 1-3% del total de abundancia de microalgas es raro y >3% del total de abundancia de microalgas es común.

ANEXO 6. Densidad media de fitoplancton, fitobentos y fitoperifiton de los muestreos realizados durante los 64 días de experimentación en los diferentes tratamientos.

División	Género	FITOPLANCTON cél. x 10 ⁴ /ml				FITOBENTOS cél./ml		FITOPERIFITON cél./ml	
		ST	ST/S	BFT	BFT/S	ST	ST/S	ST/S	BFT/S
Heterokontophyta	<i>Achnanthes</i>	0.24	0.25	0.31	0.58	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Amphora</i>	5.22	3.64	6.75	3.75	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Bacillaria</i>	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	19.24
	<i>Chaetoceros</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	27.25	87.11	0.00	0.00
	<i>Coscinodiscus</i>	0.53	0.39	0.03	0.33	335.82	398.29	501.76	259.70
	<i>Cyclotella</i>	15.06	10.83	9.75	8.78	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Fragillaria</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	74.11	48.09	76.95
	<i>Gomphonema</i>	0.00	0.28	0.00	0.00	209.13	25.01	329.59	0.00
	<i>Isocrysis</i>	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Melosira</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	167.36	240.73	287.91	211.60
	<i>Navicula</i>	0.53	0.25	0.03	0.42	678.92	548.47	588.32	638.66
	<i>Phaeodactylum</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	40.72	383.82	0.00	290.47
	<i>Pinnularia</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	492.92	105.71	97.47	0.00
	<i>Staurastrum</i>	0.06	0.47	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Stauroneis</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	71.31	63.76	83.36	25.65
	<i>Surirella</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	190.08	66.32	59.31	22.44
<i>Synedra</i>	0.22	0.44	0.50	0.50	486.96	175.37	158.70	250.08	
<i>Thalassiosira</i>	0.39	0.94	0.42	0.03	266.75	76.86	54.50	286.63	
Chlorophyta	<i>Botryococcus</i>	0.22	0.75	0.00	0.00	0.00	3.71	0.00	0.00
	<i>Closterium</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	63.48	0.00	0.00	0.00
	<i>Pediastrum</i>	0.64	0.00	0.00	2.19	871.42	0.00	134.66	0.00
	<i>Scenedesmus</i>	0.94	0.58	0.00	0.00	605.96	24.37	33.66	0.00
	<i>Tetraspora</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	67.33	0.00
Cyanophyta	<i>Aphanocapsa</i>	46.36	37.25	41.00	37.33	538.63	416.79	6660.38	2523.21
	<i>Aphanizomenon</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	488.61
	<i>Dactylococcopsis</i>	0.00	0.00	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Gloeocapsa</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.26	546.32
	<i>Merismopedia</i>	1.25	1.94	1.92	1.86	315.48	159.57	0.00	88.49
	<i>Oscillatoria</i>	0.67	0.50	1.00	0.25	452.06	494.20	246.23	296.89
	<i>Phormidium</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	623.27	35.45	381.85	0.00
	<i>Schizothrix</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	82.08	0.00
Dinophyta	<i>Distigma</i>	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Scrippsiella</i>	0.42	0.00	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Peridinium</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	23.08	0.00	0.00	0.00

Nota: Los datos corresponden a la densidad promedio de las colectas realizadas.

ANEXO 7. Microorganismos encontrados en zooplancton y zooperifiton.



Nauplio copépedo (A) (10X), Copépedo *Calanoide* (B) (40X), Copépedo *Harpacticoide* (C) (10X), *Daphnia* sp (D) (40X), Rotífero *Trichocerca* sp (E) (40X), Nemátodo (F) (40X), Conchostraca (G) (40X).

ANEXO 8. Consumo de perifiton en sistemas con bioflocs.



Nota: Las figuras A, B y C corresponden al desgaste de las boyas de tecnopor de los comederos ocasionado por los camarones, en donde se habría formado el perifiton a partir del biofloc.