

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA
MOLINA**

FACULTAD DE PESQUERIA



“EVALUACIÓN DE LAS VÍAS DE TRANSFORMACIÓN DE LOS
COMPUESTOS NITROGENADOS EN DOS SISTEMAS CERRADOS
DE CULTIVO DE PAICHE *Arapaima gigas*”

Presentado por:

TERESA MOLLAPAZA PANDIA

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO PESQUERO

Lima – Perú

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA

“EVALUACIÓN DE LAS VÍAS DE TRANSFORMACIÓN DE LOS
COMPUESTOS NITROGENADOS EN DOS SISTEMAS CERRADOS
DE CULTIVO DE PAICHE *Arapaima gigas*”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO PESQUERO

Presentado por:

TERESA MOLLAPAZA PANDIA

Aprobada por el siguiente jurado evaluador:

M. Sc. Aníbal Verástegui Maita

Presidente

Biolg. Juan Juscamaita Morales

Miembro

Ph.D. Lizardo Visitación Figueroa

Miembro

Ing. Elsa Vega Galarza
Patrocinadora

M. Eng. María Miglio Toledo
Co-Patrocinadora

La Molina, 2017

DEDICATORIA

Quiero dedicarle esta tesis de investigación a mi familia, sobre todo a mi querida madre, por sus enseñanzas, apoyo y cooperación constante pero sobre todo por su amor y fe en mí, que me motivaron a seguir adelante.

A mis hermanos; Claudia, Manuel y Francisco por darme paz cuando más la necesitaba y por comprender mi ausencia en momentos especiales.

A mi padre, aunque no esté físicamente conmigo. Gracias por enseñarme a ser disciplinada, responsable y perseverante.

A mis compañeros tesisistas Fiorella, Marili, Raisa, Enrique, Yenny, Ronald y Marco, que con su compañía y ejemplo me motivaron a seguir cada día a pesar del cansancio físico y mental.

A mi Asesora, Elsa Vega, por apoyarme a resolver cada problema que se presentó durante el experimental, por su asesoría constante y por confiar en mí.

A mi novio, Pedro, por sus palabras de aliento, optimismo y brindarme su tiempo en los momentos más difíciles.

A mis amigos Janet, Renzo y Remigio por darme ánimos, apoyarme en preparar la sustentación y depositar su confianza en mí todo este tiempo.

Y a todos aquellos que con cada pequeña acción o palabra me alentaron y contribuyeron al resultado final, mi tesis. Un pequeño logro más en vida.

Infinitamente agradecida con todos.

AGRADECIMIENTO

*“Hoy siembras con lágrimas, pero mañana cosecharás entre gritos de alegría”
Salmo 126,5-6*

A Dios sobre todo, gracias por estar presente de forma espiritual en aquellos quienes compartieron con humildad parte de su tiempo, alegría, experiencias, motivación, compañía y aliento, que significó mucho para mí y que conllevaron al resultado final de este camino. Gracias también por darme salud y fortaleza para no desistir a pesar de las dificultades y el cansancio.

Agradezco nuevamente a mi madre porque a pesar de las dificultades de su vida, nos ha brindado a mis hermanos y a mí los valores y herramientas para forjar nuestros sueños en logros, que finalmente son suyos.

A mi profesora y Co-asesora, María Miglio, que durante la carrera universitaria me motivó a seguir aprendiendo y entusiasmarme por la investigación.

A mis estimadas maestras Elsa Vega y Beatriz Ángeles por animarme a emprender esta investigación, por su apoyo constante, palabras de motivación y experiencias que me ayudaron a culminar la parte experimental y la redacción de esta tesis.

A mis amigos del CINPIS, Wilfer, Issac, Delisia, Jacky e Iván por su ayuda, compañía y ánimos durante la fase experimental.

A la Maestría de Acuicultura, por el financiamiento indirecto que me permitió seguir con la parte experimental, gracias por la confianza y el apoyo.

Al Convenio MINEDU-UNALM por el financiamiento recibido, gracias por su colaboración.

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION DE LITERATURA	5
2.1 Descripción general de la especie	5
2.2 Aspectos biológicos de la especie	5
2.3 Parámetros de calidad de agua para el cultivo del paiche.....	6
2.3.1 Temperatura.....	6
2.3.2 Oxígeno disuelto.....	6
2.3.3 pH	7
2.3.4 Conductividad	7
2.3.5 Alcalinidad	8
2.3.6 Nitrógeno amoniacal total	8
2.3.7 Nitritos y nitratos.....	9
2.4 Ciclo del nitrógeno en estanques acuícolas	10
2.5 Vías de transformación de compuestos nitrogenados en sistemas acuícolas.....	12
2.6 Sistema de recirculación en acuicultura.....	13
2.6.1 Nitrificación bacteriana	14
2.6.2 Factores que afectan la nitrificación.....	15
2.6.3 Filtro biológico	18
2.6.4 Activación del filtro biológico	19
2.6.5 Eficiencia de eliminación de nitrógeno amoniacal total y nitritos	20
2.7 Tecnología de Bioflocs (TBF)	22
2.7.1 Parámetros de calidad de agua en los TBF.....	23
2.7.2 Operaciones básicas en el manejo de los sistemas con TBF.....	24
2.7.3 Incidencias en el manejo de los sistemas con TBF	27
2.8 Balance de nitrógeno	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1 Lugar y tiempo de ejecución.....	31
3.2 Unidades experimentales	31
3.3 Material biológico.....	32
3.4 Instalación de sistemas.....	32
3.4.1 Sistemas de Recirculación de Acuicultura	32
3.4.2 Sistemas de Tecnología de Bioflocs.....	33

3.5 Manejo y funcionamiento de los sistemas	34
3.5.1 Sistemas de Recirculación de Acuicultura	34
3.5.2 Sistemas de Tecnología de Bioflocs	35
3.6 Control de la calidad del agua.....	37
3.6.1 Parámetros de calidad de agua	37
3.6.2 Método, frecuencia, lugar de muestreo y volumen de muestra.....	38
3.7 Manejo de la alimentación	40
3.8 Biometrías	40
3.9 Fase experimental	40
3.9.1 Siembra de peces	40
3.9.2 Determinación de compuestos nitrogenados orgánicos	41
3.9.3 Análisis temporal de la transformación de los compuestos nitrogenados inorgánicos (NAT, N-NO ₂ , N-NO ₃)	41
3.9.4 Eliminación de nitrógeno inorgánico en los sistemas SRA	41
3.9.5 Principales vías de eliminación de nitrógeno inorgánico en los sistemas.....	42
3.10 Análisis de datos	44
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
4.1 Variables físico químicas de calidad del agua en los sistemas SRA y TBF	46
4.2 Análisis temporal de la transformación de los compuestos nitrogenados inorgánicos.....	48
4.2.1 Nitrógeno Amoniacal Total	48
4.2.2 Amoníaco o amonio no ionizado	49
4.2.3 Nitritos	49
4.2.4 Nitratos.....	53
4.3 Eliminación de nitrógeno inorgánico en los tanques con SRA.....	60
4.4 Principales vías de eliminación de nitrógeno inorgánico en los sistemas	65
4.4.1 Estimación del balance de nitrógeno	66
4.4.2 Análisis de Componentes Principales	71
V. CONCLUSIONES.....	78
VI. RECOMENDACIONES	79
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
VIII. ANEXOS.....	97

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Concentraciones máximas toleradas de compuestos nitrogenados en el cultivo de peces.	10
Tabla 3: Efecto del pH sobre la nitrificación.....	16
Tabla 4: Composición proximal de la melaza de caña	36
Tabla 5: Control de parámetros físico químicos de calidad de agua en ambos sistemas	39
Tabla 6: Composición proximal del alimento balanceado para paiches	40
Tabla 7: Valores de los parámetros físicos químicos de calidad del agua de los sistemas SRA y TBF.	46
Tabla 8: Variación temporal de las concentraciones de iones en los tanques con TBF.	60
Tabla 9: Valores de los compuestos nitrogenados del agua a la salida del biofiltro de los SRA.....	61
Tabla 10: Eficiencia de eliminación de los compuestos nitrogenados tóxicos (NAT y nitritos) en los SRA.	64
Tabla 11: Estimación del balance de nitrógeno (g) en los tanques (T) de cultivo de juveniles de paiche <i>Arapaima gigas</i> en los sistemas cerrados de recirculación (SRA) y con tecnología de bioflocs (TBF).	66
Tabla 12: Estimación del balance de nitrógeno (%) en los tanques (T) de cultivo de juveniles de paiche <i>Arapaima gigas</i> en los sistemas cerrados de recirculación (SRA) y con tecnología de bioflocs (TBF).	67
Tabla 13: Matriz de correlaciones de Pearson de las principales variables físicas y químicas de calidad de agua en los tanques con SRA.....	72
Tabla 14: Análisis de componentes principales de las variables físicas y químicas de calidad del agua de los tanques con SRA.....	72
Tabla 15: Matriz de correlaciones de Pearson de las principales variables físicas y químicas de calidad de agua en los tanques con TBF.	74
Tabla 16: Análisis de componentes principales de las variables físicas y químicas de calidad del agua en los TBF.	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo del nitrógeno en un estanque con largo tiempo de residencia hidráulica....	12
Figura 2: Esquema del desarrollo de la nitrificación en un biofiltro.....	20
Figura 3: Distribución de unidades experimentales y filtros dentro del invernadero (Vista de planta).....	31
Figura 4: Filtro sumergido y sus componentes.....	33
Figura 5: Comportamiento de los niveles de NAT, nitritos y nitratos en los sistemas SRA y con TBF.....	51
Figura 6: Variación de los niveles de nitritos con respecto a la concentración de OD en el agua de los tanques con SRA.....	52
Figura 7: Variación de la alcalinidad en los tanques con SRA y TBF.....	53
Figura 8: Efecto del control heterotrófico reflejado en el aumento de los SST sobre los niveles de NAT en los tanques con TBF.....	55
Figura 9: Incremento y extracción de SS en los tanques con TBF.....	56
Figura 10: Nitrógeno orgánico en base seca acumulado en los bioflocs de los tanques con TBF de 1500L.....	57
Figura 11: Presencia de bacterias filamentosas causantes del <i>bulking</i> filamentoso en los tanques con TBF.....	58
Figura 12: Relación de la periodicidad de adición de melaza con la disminución de los niveles de NAT en los TBF.....	59
Figura 13: Presencia de Foaming causante de espuma de coloración marrón rojizo en los TBF.....	59
Figura 14: Valores de VTR calculados en los biofiltros de los SRA.....	63

Figura 15: Relación del porcentaje de eliminación de NAT de los biofiltros con los niveles de SST en el agua de cultivo en los SRA.	65
Figura 16: Comparación del balance porcentual estimado promedio de las formas de nitrógeno presentes en las unidades con SRA y con TBF.	69
Figura 17: Variación promedio de la temperatura del agua de cultivo en los tanques con SRA.	73
Figura 18: Concentraciones promedio de conductividad en los tanques con TBF.	76
Figura 19: Concentraciones de oxígeno disuelto (15:00 horas) en los tanques con TBF. ...	77

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Dosis de bicarbonato de sodio (g) requerida para alcanzar el equilibrio de alcalinidad para un volumen dado basándose en la diferencia progresiva desde el nivel de alcalinidad actual.....	97
--	----

RESUMEN

La presente investigación se realizó para evaluar las vías de transformación de nitrógeno inorgánico producido en dos sistemas cerrados de cultivo de juveniles de paiche *Arapaima gigas*, siendo estos un sistema de recirculación (SRA) y un sistema de tecnología bioflocs (TBF). Ambos sistemas se mantuvieron bajo las mismas condiciones operacionales (igual volumen de agua, biomasa inicial, alimento y tasa de alimentación). El experimento fue desarrollado en 56 días, durante el cual se realizaron mediciones de nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos y nitratos para evaluar su transformación en el tiempo, además se midieron los sólidos suspendidos totales (SST) en ambos sistemas como un indicador del crecimiento de bacterias heterótrofas. En los SRA se evaluó la eficiencia de eliminación de nitrógeno amoniacal y nitritos, mediante fórmulas aplicadas en biofiltros acuícolas. Sumado a ello se realizó un balance de nitrógeno y un Análisis de Componentes Principales (ACP) para identificar las principales vías de transformación del nitrógeno inorgánico. Finalmente se determinó que el SRA fue el mejor sistema cerrado de cultivo, que mantuvo los niveles de nitrógeno inorgánico en rangos seguros para la especie, con una mayor incorporación de nitrógeno en la biomasa de peces (41.2%) en comparación a los sistemas biofloc (28.2%). Así mismo, se concluye que en el SRA la transformación del nitrógeno inorgánico estuvo regida por la nitrificación bacteriana, mientras que en el sistema con TBF se dio la inmovilización del nitrógeno mediante la incorporación en la biomasa bacteriana y mediante la nitrificación. En cuanto a los sistemas de recirculación se determinó porcentajes de eliminación de NAT de 17 a 79%, una tasa volumétrica de conversión de NAT de 29 a 281 g.m⁻³. dia⁻¹ y una tasa volumétrica de conversión de nitrito de 2 a 250 g.m⁻³. dia⁻¹.

Palabras claves: paiche, nitrógeno, transformación, TBF, SRA, biofiltro.

ABSTRACT

The present research was carried out to evaluate the transformation pathways of inorganic nitrogen produced in two closed systems of juvenile farming of *Arapaima gigas*, being these a recirculation system (RAS) and a biofloc technology system (BFT). Both system was maintained under the same operating conditions (equal water volume, initial biomass, food and feed rate). The experiment was developed in 56 days, during which measurements of total ammoniacal nitrogen (TAN), nitrites and nitrates were carried out to evaluate their transformation over time, and total suspended solids (TSS) were measured in both systems as an indicator of growth of heterotrophic bacteria. In the RAS, the efficiency of elimination of ammoniacal nitrogen and nitrites was also evaluated, using formulas applied in aquaculture biofilters. In addition to this, a nitrogen balance and a Principal Component Analysis (PCA) were performed to identify the main transformation ways of inorganic nitrogen. Finally, it was determined that RAS was the best closed system of farming, which maintained inorganic nitrogen levels in safe range for the species, with a higher incorporation of nitrogen in fish biomass (41.2%) compared to biofloc systems (28.2%). It is concluded that in the RAS the transformation of the inorganic nitrogen was governed by bacterial nitrification, whereas in the systems with BFT the nitrogen immobilization was achieved by incorporation into the bacterial biomass and by nitrification. As for the recirculation systems, percent ammonia nitrogen total elimination were determined from 17 to 79%, a volumetric TAN conversion rate of 29 to 281 $\text{g.m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$ and a volumetric nitrite conversion rate of 2 to 250 $\text{g.m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$.

Key words: paiche, nitrogen, transformation, BFT, RAS, biofilter.

I. INTRODUCCIÓN

El intensivo desarrollo de la industria acuícola ha ido acompañado de un aumento de los impactos ambientales. Los sistemas acuícolas derivan sus efluentes con nutrientes en dilución, siendo compuestos orgánicos e inorgánicos tales como nitrógeno, fósforo, carbono orgánico disuelto y materia orgánica, que provienen del alimento no consumido y las excretas de los organismos cultivados (Piedrahita, 2003; Sugiura et al. 2006). Los altos niveles de excreción de nitrógeno amoniacal son debidos al elevado contenido de proteínas de los alimentos y las altas densidades de producción, que generan exceso de nutrientes, principalmente de nitrógeno (Young, 2002). Existen pocos estudios específicos sobre la dinámica de los nutrientes; particularmente sobre los flujos y balances en estanques acuícolas (Casillas-Hernández et al. 2012), que podrían determinar la eficiencia de los sistemas para remover el nitrógeno.

El balance de nitrógeno es una herramienta que permite comparar la distribución de los componentes nitrogenados dentro de cada sistema. El mayor entendimiento del balance permitirá la reducción de los desechos nitrogenados tóxicos y la caracterización de sus componentes (Jackson et al. 2003), así mismo permitirá identificar mejoras en el manejo que ayuden a reducir el exceso de nitrógeno y mejorar su retención en peces (Gonzales-Feliz y Perez-Velasquez, 2006). Diversos autores han realizado balances de nutrientes en cultivos intensivos, entre ellos, Casillas-Hernández et al. (2012) en un sistema de recirculación de acuicultura (SRA) para el cultivo de tilapia y Avnimelech et al. (1992) en el cultivo intensivo de tilapia en biorreactores de bioflocs.

El nitrógeno inorgánico en el agua se presenta como NH_3 (amoníaco) y NH_4^+ (ión amonio). Aunque ambos pueden ser tóxicos para los peces, el amoníaco es la forma más tóxica, incluso niveles bajos pueden ser nocivos para la mayoría de los animales cultivados. Por ello, el acuicultor necesita proporcionar mecanismos para mejorar la eliminación de amoníaco para mantener una concentración aceptable.

Existen tres vías para la eliminación de nitrógeno amoniacal, la primera basada en los procesos fotoautotróficos (Brune et al. 2004), la segunda, mediante bacterias autótrofas quimiosintéticas (bacterias nitrificantes), y la última mediante bacterias heterotróficas.

En los sistemas de producción tradicionales la mayor parte del nitrógeno se pierde durante la descarga de efluentes; sin embargo, en sistemas cerrados la pérdida de nitrógeno se reduce considerablemente (Thakur y Lin, 2003). Ante esta situación, con el fin de aumentar la bioseguridad, el rendimiento, controlar los parámetros de calidad del agua y reducir el uso de agua, se vienen dando el cultivo de peces en sistemas cerrados. Como los sistemas con tecnología de bioflocs (TBF) y los sistemas de recirculación de acuicultura (SRA).

Los sistemas con tecnología Biofloc (TBF) controlan la acumulación de amonio mediante la manipulación de la relación carbono / nitrógeno de tal manera que promueva el crecimiento de bacterias heterotróficas (Avnimelech, 1999; McIntosh, 1999, 2001) y donde el recambio de agua es casi nulo. Mientras que, en los sistemas de recirculación, la acumulación de nitrógeno amoniacal total es controlada mediante el uso de un biofiltro, en donde se realiza el proceso de nitrificación (Timmons et al. 2002) y operan a recambios de agua muy bajos (del 2% al 10% al día).

Los estudios en sistemas con cero y bajo recambio de agua se han orientado básicamente a especies como la tilapia, langostino y bagre de canal (Poleo et al. 2011). Son pocos los experimentos reportados en otras especies tropicales y potenciales para ser cultivadas en sistemas cerrados (Kubitza, 2011). Además de existir especies tropicales nativas y promisorias para la acuicultura como el paiche.

El “paiche” *Arapaima gigas* es el mayor pez escamado que habita los cuerpos de agua de la cuenca del Amazonas y del Orinoco y es considerado una especie promisoriosa para la piscicultura continental (Chu-Koo y Alcántara, 2009) debido a su rápido crecimiento, alcanzando aproximadamente 10 kilos en el primer año de vida, la capacidad de realizar la respiración aérea, soportar altas densidades de cultivo, la aceptación de alimento balanceado para peces carnívoros y también por proporcionar una buena conversión alimenticia (Ono et al. 2004). Además, existe el interés de distintos gobiernos regionales,

como el de Ucayali donde se promueve la reproducción del paiche ante la disminución de sus poblaciones en ambientes naturales de la Amazonía (García, 2014).

Por tales motivos, se planteó el cultivo de juveniles de paiche en dos sistemas cerrados (SRA y TBF) bajo condiciones controladas, con el objetivo de evaluar las vías de transformación de los compuestos nitrogenados y determinar el mejor sistema de cultivo que permita el mantenimiento de la calidad del agua para la adaptación y el crecimiento de los peces.

Los objetivos específicos del experimento fueron:

- Analizar el comportamiento temporal de los compuestos nitrogenados tóxicos (NAT, N-NO₂, N-NO₃) en ambos sistemas.
- Determinar el porcentaje y la tasa de eliminación de nitrógeno amoniacal y nitritos en los sistemas de recirculación.
- Identificar y comparar las principales vías de transformación de nitrógeno inorgánico en ambos sistemas cerrados.

El presente trabajo de investigación se desarrolló en concordancia con el proyecto de la Maestría de Acuicultura – UNALM en el “Desarrollo de protocolos de producción en sistemas de bioflocs (TBF) en etapa de pre-cría para especies de agua dulce de importancia comercial” financiado por CONCYTEC.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA ESPECIE

El *Arapaima gigas*, llamado paiche en Perú y pirarucú en Brasil, perteneciente a la familia Osteoglossidae, es considerado uno de los más grandes peces escamados de agua dulce del mundo (Bard y Imbiriba, 1986), alcanza un peso de 200 kg y una longitud de 2 a 3 m (Saint-Paul, 1986).

El paiche se distribuye en toda la cuenca del Amazonas en países como Perú, Brasil, Colombia, Bolivia y Guyana (Chu-Koo, 2006). En el Perú se encuentra en las cuencas bajas de los ríos Napo, Putumayo, Marañón, Pastaza y Ucayali, con abundancia en la Reserva Nacional Pacaya-Samiria (Rebaza et al. 1999).

El hábitat de esta especie son las aguas negras y tranquilas de la Amazonía, en los lagos, lagunas y otros ambientes menores de la planicie inundable, con abundante vegetación acuática flotante, que en ocasiones llega a cubrir totalmente el espejo de agua (Rebaza et al. 1999).

La piscicultura intensiva del paiche es viable, en parte, por las características fisiológicas propias de la especie, como su gran rusticidad, debido a su notable respiración aérea, alta velocidad de crecimiento, llegando a más de 10 kg en un año y la calidad de su carne (Bard y Imbiriba, 1986), ya que carece de huesos intermusculares y es altamente preferida por el consumidor de la región amazónica (Alcántara, 1991). Además de soportar altas densidades de siembra, que facilita su cultivo en jaulas flotantes (Ono y Kubitzka, 1999; Cavero, 2002) y por ende en sistemas intensivos.

2.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS DE LA ESPECIE

Respecto a su morfología el paiche tiene cuerpo alargado, circular y elipsoidal en sección, revestido de grandes y gruesas escamas cicloideas; las aletas pectorales están separadas de las ventrales, en tanto que las dorsales y anales se encuentran cerca de la aleta caudal (Bard y Imbiriba, 1986).

Anatómicamente el paiche presenta un sistema branquial con un grado relativo de atrofia y que es insuficiente para abastecer de oxígeno a la gran masa corporal, lo que es compensado por la vejiga natatoria. La modificación sufrida por la vejiga natatoria consiste en que las paredes internas han desarrollado un abundante tejido vascular, que contribuye a aumentar la superficie que sirve para el intercambio de gases entre el aire y la sangre circulante por los capilares (Rebaza et al. 1999).

Respecto a sus hábitos nutricionales, el paiche en el medio natural se alimenta principalmente de peces y está considerado como un carnívoro moderado (Fontenele y Vasconcelos, 1982), que se alimenta básicamente de pequeños peces en proporción de 8 a 10% de su peso vivo, en la etapa de alevinaje, y 6% cuando es adulto. Sin embargo, en cultivos recientes se ha comprobado que acepta otros tipos de alimentos como pan, galletas, ración peletizada, etc. (Rebaza et al. 1999; Imbiriba, 2001; Padilla et al. 2002; Aldea et al. 2002). Una de las alternativas de alimentación en condiciones de cultivo son las raciones peletizadas (Imbiriba, 2001; Padilla et al. 2002), donde se debe tener en cuenta la fase de adaptación a la ración. Esta adaptación se debe realizar en la etapa de alevinaje, debido a que en ésta etapa su aparato digestivo está en transición de omnívoro a carnívoro (Fontenele, 1948). Según Padilla et al. (2002), los alevinos de paiche deben ser sometidos a un período de adaptación de alimento concentrado al 50% de proteína bruta por un período de 5 días, luego de que aceptan este concentrado se les suministra el alimento a una tasa alimentaria del 6 a 8% de la biomasa total. Por otro lado, Rebaza et al. (2006) recomiendan para la fase de alevinaje una dieta extruída con 40% de proteína bruta, una frecuencia de alimentación de 5 veces al día y una tasa de alimentación de 5% de la biomasa total, mientras que Gonçalves et al. (2012) sugieren una tasa de 3% de la biomasa total para juveniles de paiche.

2.3 PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA PARA EL CULTIVO DEL PAICHE

2.3.1 Temperatura

La temperatura del agua es una variable importante en el cultivo de peces y está directamente relacionada con los procesos fisiológicos como tasa de respiración, eficiencia en la alimentación y asimilación, crecimiento, comportamiento y reproducción (Timmons et al. 2002).

La temperatura del agua de los ambientes naturales donde vive esta especie varía entre 25 y 32 °C y en los estanques o embalses de cultivo en las regiones tropicales se producen también variaciones en este rango, con algunas excepciones en que el límite superior alcanza los 36 °C (Rebaza et al. 1999).

Padilla et al. (2002) encontraron una diferencia máxima de 5 °C en la temperatura del agua en el periodo de la mañana con respecto a la tarde en el cultivo de paiche en jaulas en Loreto, lo cual concuerda con los valores encontrados por Alcántara y Guerra (1992) en el cultivo en estanques de tierra; Imbiriba et al. (1996) y Aldea et al. (2002) en jaulas flotantes, quienes reportan medias de 25.7–34.8 °C; 24–26 °C y 26.8–31.4 °C respectivamente.

Sagratzki-Cavero et al. (2004) establecieron que el paiche en estanques se desarrolla óptimamente a una temperatura del agua de 26 a 28°C. Por otro lado, Franco (2005) reporta que temperaturas menores a 24°C son mortales para los alevinos y juveniles de paiche.

2.3.2 Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto es sumamente importante en el crecimiento y sobrevivencia de los peces en cultivo. El consumo de oxígeno disuelto aumenta con la temperatura. A medida que aumenta la intensificación del cultivo, este factor puede convertirse en limitante (Egna y Boyd, 1997).

Según Argumedo (2005), los Osteoglosidos, grupo al cual pertenece *A. gigas* conforman un grupo de peces adaptados a ecosistemas acuáticos pobres en oxígeno, lo cual ha

generado adaptaciones, en el cual la vejiga natatoria está transformada en un órgano de respiración.

Según Rebaza et al. (1999) el rango deseable de oxígeno disuelto en el agua para el cultivo de paiche es de 5 mg.L^{-1} , mientras que Cavero et al. (2003) establece este rango entre 4.5 a 7.5 mg.L^{-1} y Tavares-Dias et al. (2010) reportaron un rango de 4.0 a 6.0 mg.L^{-1} en el cultivo semi intensivo de paiches en estanques.

2.3.3 pH

El pH del agua de los estanques es fuertemente influenciado por la concentración del dióxido de carbono, el cual actúa como sustancia ácida. El fitoplancton y las plantas acuáticas fijan el dióxido de carbono durante el proceso de la fotosíntesis (día) disminuyendo su concentración en el agua y lo liberan durante el proceso de respiración (noche), por esta razón se producen variaciones de pH a través del curso diario, observándose mayores valores durante el día y menores durante la noche.

Las aguas en la Amazonía, por lo general son ligeramente ácidas y esto se debe a la característica del suelo, que también es ácido o ligeramente ácido; los aguajales y las quebradas que nacen al interior del bosque normalmente tienen una coloración negruzca debido al alto contenido de materia vegetal en descomposición. Esta agua es ácida y presenta niveles de pH entre 5.5 y 6.5, que limita la producción planctónica (Rebaza et al. 1999).

El pH recomendado para el manejo del paiche debe estar entre 6.5 y 8.0 unidades (Franco, 2005). Valores inferiores o superiores a estos niveles son inadecuados para los peces en cultivo debido a que se produce bajo crecimiento. Los niveles letales de pH son menores a 4 o superiores a 11, esto produce excesiva acidez o alcalinidad respectivamente (Rebaza et al. 1999).

2.3.4 Conductividad

La conductividad corresponde a la concentración de los iones disueltos en el agua y depende de la composición química del terreno adyacente al estanque (Franco y Peláez, 2007). Según Argumedo (2005) los Osteoglosidos se deben mantener en conductividades que oscilen entre 26.0 a $64.0 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Mientras que Cavero et al.

(2003), reporta conductividades de 31.0 a 46.0 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ en el cultivo de juveniles de paiche en jaulas de pequeño volumen y Chu-Koo et al. (2007) registra una conductividad promedio de $141.2 \pm 13.4 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ en el cultivo de juveniles en tanques de cemento.

2.3.5 Alcalinidad

La concentración total de bases en el agua es expresada en miligramos de carbonato de calcio por litro de agua ($\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$) equivalente a la alcalinidad total. Las bases en el agua incluyen hidróxido, borato, fosfato, silicato, bicarbonato y carbonato, pero en la mayoría de las aguas de los estanques, bicarbonato y carbonato se encuentran en mayor concentración que otras bases (Boyd, 1990). La alcalinidad es la capacidad de amortiguamiento del agua y puede afectar el potencial de productividad primaria y también el pH del agua. Idealmente, un estanque de acuicultura debería tener la alcalinidad total de moderada a alta (75 a 200 $\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$), pero no menos de 20 $\text{mgCaCO}_3 \cdot\text{L}^{-1}$ porque limita la productividad de un estanque (Wurts y Durborow, 1992). Mientras que Boyd (1990) recomienda valores entre 25 y 100 $\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ de alcalinidad.

Franco et al. (2009) reportaron para cultivo comercial de paiche la alcalinidad entre 17.1 a 68.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que Ramírez et al. (2013) registraron concentraciones de 200 a 370 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en el cultivo de alevines de paiche en Ucayali.

2.3.6 Nitrógeno amoniacal total

El amonio es el principal producto de excreción de nitrógeno de los organismos acuáticos y se encuentra disuelto en el agua en una forma ionizada (NH_4^+), otro compuesto nitrogenado en el agua es la forma no ionizada, conocida como el amoníaco (NH_3). Las dos formas juntas conforman el nitrógeno amoniacal total (NAT). Cuanto mayor sea el pH, mayor es el porcentaje del amoníaco presente (forma tóxica). El amonio es un compuesto resultante de catabolismo proteico y se encuentra en niveles bajos cuando la biomasa es todavía pequeña (Pereira y Mercante, 2005).

Según Durborow et al. (1997) los niveles peligrosos de amonio no ionizado tóxico que a corto plazo son capaces de matar a los peces en pocos días comienzan alrededor de 0.6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los niveles de amoníaco entre 0.7 y 2.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pueden ser fatales para los

peces cuando se expone durante un período corto. La exposición continua o frecuente a concentraciones de amoníaco (tóxico) por encima de 0.02 mg.L^{-1} puede causar irritación intensa e inflamación en las branquias (Kubitza, 1999). La exposición crónica a niveles tóxicos de amonio no ionizado tan bajos como 0.06 mg.L^{-1} puede causar daño renal y en branquias, reducción en el crecimiento, posible mal funcionamiento cerebral y reducción en la capacidad de transporte de oxígeno en la sangre de los peces (Durborow et al. 1997).

Cavero et al. (2004) reporta que el paiche puede soportar hasta 25 mg.L^{-1} de NAT y 2.0 mg.L^{-1} de amoníaco aproximadamente, lo cual atribuye a una adaptación propia de la especie de tolerar condiciones ambientales adversas en ambientes acuáticos. Mientras que Scorvo-Filho et al. (2004) reportaron concentraciones máximas de 15.20 mg.L^{-1} de amonio ionizado y 0.84 mg.L^{-1} de amoníaco en el cultivo de alevines de paiche en SRA.

2.3.7 Nitritos y nitratos

El nitrato es el producto final de la nitrificación y el menos tóxico de los productos nitrogenados. Mientras que la toxicidad de nitrito (NO_2) ha sido demostrada en los peces, siendo más susceptibles los alevines y los juveniles (Balbuena, 2011).

La presencia de nitrito en los estanques se debe a la nitrificación, en la que el amonio, producto de la excreción y descomposición de la materia orgánica es oxidado a nitrito. Sin embargo, el nitrito también puede derivarse de la reducción del nitrato por acción de las bacterias anaeróbicas del fango del fondo del estanque (Rebaza et al. 1999).

La toxicidad del nitrito es debida a la oxidación de Fe^{2+} (estado ferroso) presente en la hemoglobina a Fe^{3+} (estado férrico), dando la formación de metahemoglobina, la cual es incapaz de transportar el oxígeno, lo que deriva en un cuadro de hipoxia y cianosis (Durborow et al. 1997).

En cuanto a los nitratos, niveles entre 0 y 40 mg.L^{-1} son generalmente seguros para los peces, cualquier valor superior a 80 mg.L^{-1} puede ser tóxico (Bautista y Ruiz-Velazco, 2011). Sin embargo, Ebeling et al. (1995) sostienen que los estudios han demostrado que las especies acuáticas pueden tolerar valores extremadamente altos (mayores a 100 mg.L^{-1}) en los sistemas de producción. Cuando los niveles de nitratos empiezan a

umentar progresivamente, se deben realizar cambios parciales de 20 a 30% de agua cada 3 ó 4 días hasta que la situación se estabilice.

Timmons et al. (2002) y Boyd (1990) recomiendan para el cultivo de peces valores por debajo de 1.0 mg.L⁻¹ de NAT y de 0.2 a 10 mg.L⁻¹ de nitratos. Bautista y Ruiz-Velazco (2011) mencionan que a niveles de nitritos superiores a 0.75 mg.L⁻¹ en el agua pueden provocar estrés en los peces y mayores de 5 ppm pueden ser tóxicos. Losordo et al. (1998) sugieren que la cantidad de nitritos en los tanques de cultivo no deben pasar los 0.5 mg.L⁻¹. Crescêncio et al. (2005) reportan una concentración media de nitrito de 0.14±0.14 mg.L⁻¹ en el cultivo de juveniles de paiche en jaulas.

Tabla 1: Concentraciones máximas toleradas de compuestos nitrogenados en el cultivo de peces.

Compuestos nitrogenados	Especie	Edad	Concentración máxima	Toxicidad
NAT	paiche	Juveniles	25 mg.L ⁻¹ (1)	Crónica
	paiche	Juveniles	15.2 mg.L ⁻¹ (2)	Crónica
N-NO ₂	En general		0.5 mg.L ⁻¹ (3)	
	Peces tropicales		0.3 - 0.5 mg.L ⁻¹ (4)	Crónica
N-NO ₂	En general		1 mg.L ⁻¹ (5)	
	En general		5 mg.L ⁻¹ (6)	
	Tilapia roja		16 mg.L ⁻¹ (7)	LC ₅₀₋₉₆
N-NO ₃	Bagre canal		10 mg.L ⁻¹ (8)	
	En general		80 mg.L ⁻¹ (9)	Crónica
	En general		100 mg.L ⁻¹ (3)	

FUENTE: (1) Cavero et al. (2004), (2) Scorvo-Filho et al. (2004), (3) Ebeling et al. (1995), (4) Kubitzka (2003), (5) Timmons et al. (2002), (6) Bautista y Ruiz-Velazco (2011), (7) Arana (2004), (8) Boyd (1990), (9) Bautista y Ruiz-Velazco (2011)

2.4 CICLO DEL NITRÓGENO EN ESTANQUES ACUÍCOLAS

El ingreso de nitrógeno en los estanques acuícolas considerado en estos sistemas es el alimento formulado. Una parte de la alimentación sigue sin consumirse en el sistema (Franco-Nava et al. 2004). Mientras que el alimento consumido es parcialmente

convertido en biomasa de peces y parcialmente excretado como amonio o evacuado como heces (Jiménez-Montealegre et al. 2002). Se estima que el porcentaje de nitrógeno incorporado en los peces en sistemas acuícolas es aproximadamente del 25-27 % del nitrógeno añadido (Avnimelech y Lacher, 1979; Boyd, 1985; Avnimelech y Ritvo, 2003). Mientras que, el alimento no consumido y las heces contribuyen a la carga de materia orgánica del sistema. Según Brune et al. (2003) alrededor del 36% de la alimentación se excreta como una forma de residuos orgánicos. La descomposición microbiana de la materia orgánica en el sistema conduce a mayores niveles de NAT y nitritos, tanto perjudiciales para los peces, incluso a bajas concentraciones (Torres-Beristain et al, 2006). El NAT presente en el sistema puede ser transformado en nitrito, nitrato y nitrógeno gaseoso. La formación de gas nitrógeno se considera insignificante en los estanques de acuicultura (El Samra y Oláh, 1979). Sin embargo, la volatilización puede ser importante como mecanismo de remoción del amoníaco durante la tarde en estanques de baja alcalinidad (Alcalinidad total $< 20 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$), donde el pH puede exceder de 9 en respuesta al agotamiento del CO_2 del agua por el fitoplancton (Hariyadi et al., 1994).

Las bacterias presentes en el agua y los sedimentos llevan a cabo estas transformaciones de nitrógeno por nitrificación y desnitrificación. La desnitrificación en estos estanques se limita a los sedimentos, donde la presencia de condiciones anóxicas como resultado de la degradación de la materia orgánica y, además, la liberación de compuestos de carbono de bajo peso molecular, proporcionan condiciones adecuada para la desnitrificación (Avnimelech et al., 1992, Hargreaves, 1998, Gross et al., 2000).

Por otra parte, tanto NAT y nitrato pueden ser asimilados por el fitoplancton, presente en la columna de agua. Los estanques de a menudo desarrollan densas poblaciones de fitoplancton en respuesta a una alta tasa de aporte de nutrientes. Las floraciones de fitoplancton en la mayoría de estanques son probablemente limitados de luz, lo que sugiere que los nutrientes están disponibles en concentraciones que exceden los límites de absorción o se suministran en exceso de los requerimientos celulares (Hargreaves, 1998). El fitoplancton puede ser consumido por los organismos cultivados (Turker et al. 2003). En los estanques de agua estancada el NAT tiende a acumularse dentro del sistema debido a la actividad nitrificante insuficiente (Grommen et al., 2002).

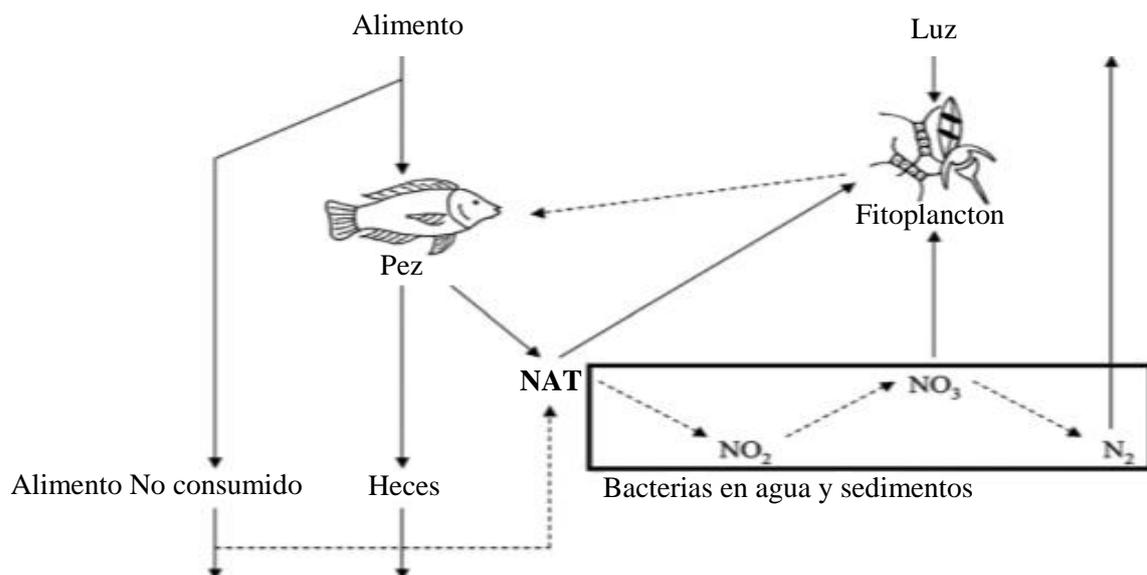


Figura 1: Ciclo del nitrógeno en un estanque con largo tiempo de residencia hidráulica

FUENTE: Crab et al. (2007)

2.5 VÍAS DE TRANSFORMACIÓN DE COMPUESTOS NITROGENADOS EN SISTEMAS ACUÍCOLAS

Las tres vías de conversión de nitrógeno presentes naturalmente para la eliminación de nitrógeno amoniacal en sistemas de acuicultura son la eliminación fotoautótrofa por algas, la conversión bacteriana autótrofa de nitrógeno amoniacal a nitrato y la conversión bacteriana heterotrófica de amonio directamente a la biomasa microbiana (Ebeling et al., 2006).

La primera vía depende del uso de la biosíntesis de algas para la eliminación de la mayor parte del nitrógeno inorgánico. El principal inconveniente de los sistemas basados en algas son las amplias variaciones diurnas del oxígeno disuelto, el pH, el nitrógeno amoniacal y los cambios a largo plazo en la densidad de las algas y la frecuente muerte celular (Burford et al., 2003).

La segunda vía de transformación de nitrógeno es mediante la nitrificación bacteriana autótrofa. Existen dos grupos filogenéticamente distintos de bacterias que realizan colectivamente la nitrificación. Estos dos grupos de bacterias generalmente se clasifican

como bacterias autótrofas quimiosintéticas porque derivan su energía de compuestos inorgánicos en oposición a las bacterias heterotróficas que derivan energía de compuestos orgánicos (Hagopian y Riley, 1998). Las bacterias oxidantes de amonio (AOB) obtienen su energía catabolizando el amonio a nitrito e incluyen bacterias de los géneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* y *Nitrosovibrio*. Las bacterias oxidantes de nitrito (NOB) oxidan el nitrito a nitrato e incluyen bacterias de los géneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* y *Nitrospina*. Las bacterias nitrificantes son principalmente autótrofos obligatorios, que consumen el dióxido de carbono como su principal fuente de carbono, y aerobios obligatorios, que requieren oxígeno para crecer (Hagopian y Riley, 1998).

La tercera vía, el crecimiento bacteriano heterotrófico se estimula a través de la adición de sustrato carbonoso orgánico. A altas proporciones de relación de carbono a nitrógeno (C/N), las bacterias heterotróficas asimilan el ión amonio directamente en la proteína celular (Ebeling et al. 2006). Esta absorción de nitrógeno favorecida por el crecimiento bacteriano disminuye la concentración de amonio más rápido que la nitrificación (Hargreaves, 2006). La inmovilización del amonio por las bacterias heterotróficas ocurre mucho más rápidamente porque la tasa de crecimiento y el rendimiento de la biomasa microbiana por unidad de sustrato de heterótrofos es más alto que el de las bacterias nitrificantes (Hargreaves, 2006).

2.6 SISTEMA DE RECIRCULACIÓN EN ACUICULTURA

Los sistemas de recirculación de agua están diseñados para minimizar o reducir la dependencia de recambios de agua y limpieza en unidades de cultivo de peces (Parker, 2000). El único recambio de agua es por la pérdida de agua por evaporación y limpieza (Ebeling et al. 1995).

Existen cinco ventajas importantes en el uso de los sistemas de recirculación de acuicultura: bajos requerimientos de agua, bajos requerimientos de tierra, la capacidad de controlar la temperatura del agua, la capacidad de controlar la calidad del agua y la independencia de las condiciones meteorológicas adversas (Telzloff y Heidinger, 1990).

Los procesos unitarios y componentes típicos de un sistema de recirculación operan con eficacia si permiten la retención de partículas, la aireación, filtración biológica para

eliminar los residuos tóxicos como amoníaco y nitrito, y mantener la capacidad amortiguadora de pH (Parker, 2000).

2.6.1 Nitrificación bacteriana

Las bacterias nitrificantes viven en una gran variedad de hábitats, incluyendo agua dulce, agua potable, aguas residuales, agua de mar y en el suelo. La técnica de tinción de Gram, se utiliza para diferenciar las bacterias Gram positivas de las bacterias Gram negativas, y es una de las técnicas convencionales junto con la tinción de Neisser que sirven para diferenciar diferentes morfotipos de bacterias filamentosas. Las bacterias nitrificantes son Gram negativas (Avendaño, 2011).

Los principales géneros de bacterias nitrificantes usan dióxido de carbono o carbono inorgánico para la síntesis de material celular. Por cada molécula de dióxido de carbono asimilado, aproximadamente 30 moléculas del ion amonio o 100 moléculas de nitrito deben ser oxidadas. Debido a la gran cantidad de iones amonio y nitrito que son necesarios para asimilar dióxido de carbono, las bacterias nitrificantes tienen una muy baja velocidad de crecimiento (Gerardi, 2002).

La nitrificación bacteriana es un proceso de oxidación aeróbica de dos etapas, ocurriendo primero la transformación de amonio a nitrito, en presencia de las bacterias *Nitrosomonas*, luego una oxidación adicional donde se transforma el nitrito a nitrato y energía, mediante las bacterias *Nitrobacter*. Este proceso es continuo y con el tiempo los nitratos (NO_3^-) se acumulan en el sistema, por lo que es recomendable realizar recambios periódicos del 1 al 10% del agua de acuerdo al sistema (Huguenin y Colt, 1989; Dawes, 1991). El nitrito también es tóxico en bajas concentraciones, por lo que ambas reacciones deben ocurrir para el éxito de la biofiltración (Parker, 2000). A continuación, se presentan las reacciones de nitrificación (Gerardi, 2002).



Por cada gramo de ion amonio (NH_4^+) oxidado a nitrato (NO_3^-), se consumen 4.57 g de O_2 y 7.13 g de CaCO_3 (Cárdenas, 2008).

A pesar de que los iones amonio y amoniaco son las formas reducidas del nitrógeno. El ion amonio es el que es oxidado durante la nitrificación. Las cantidades de ambos iones en el tanque de aireación dependen del rango de temperatura, siendo el ideal entre 10°C a 20°C y un pH de 7 a 8.5. Bajo estas condiciones operacionales cerca del 95% de la forma reducida de nitrógeno viene representada por el ion amonio (Gerardi, 2002).

2.6.2 Factores que afectan la nitrificación

Las principales consideraciones sobre el manejo abarcan, el control del nitrógeno amoniacal total (NAT), los nitritos, la demanda biológica de oxígeno (DBO), los sólidos suspendidos totales (SST) y la temperatura del agua, además del dióxido de carbono (CO₂). Estos parámetros deben ser monitoreados constantemente para poder regularlos cuando se encuentren fuera de los límites de tolerancia de la especie a cultivar y para el óptimo desarrollo de las bacterias del filtro biológico.

a. Temperatura

La temperatura es el factor operacional más influyente en el crecimiento de las bacterias nitrificantes, existe una reducción en la velocidad de nitrificación con la disminución de la temperatura. Por el contrario, la tasa de crecimiento de las bacterias nitrificantes aumenta considerablemente con la temperatura en el rango de 8°C a 30°C, con un aumento del 10% por cada 1°C de incremento de la temperatura en el género *Nitrosomonas*, mientras que su temperatura ideal para el proceso de nitrificación es de 30°C (Gerardi, 2002), como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2: Efecto de la temperatura sobre la nitrificación

Temperatura	Efecto sobre la nitrificación
> 45 °C	Se detiene la nitrificación
28 a 32 °C	Rango de temperatura óptimo
16 °C	Aproximadamente el 50% de la velocidad óptima
10 °C	20 % de la velocidad óptima, reducción significativa
< 5 °C	Se detiene la nitrificación

FUENTE: Gerardi (2002)

Según Tucker y Robinson, citado por Lawson (1995) el rango de temperatura óptima para la nitrificación es de 27 a 35°C. Mientras que Morales (1982) indica que la temperatura óptima para el crecimiento de bacterias nitrificantes es de 30 a 35°C

b. Oxígeno disuelto

Una concentración mínima de 5 mg.L⁻¹ de OD se requiere para el buen funcionamiento del sistema de recirculación (Greiner y Timmons, 1998). Por debajo de 2 mg.L⁻¹ OD en los filtros biológicos comienzan a mostrar efectos negativos sobre las actividades de *Nitrobacter* y *Nitrosomonas* porque la tasa de difusión de oxígeno en la película bacteriana comienza a limitar el proceso de nitrificación (Malone, 1995). Por ejemplo, para oxidar 1 mg de amonio son necesarios 4.6 mg de O₂ (Bitton, 1994).

c. pH

El pH es un parámetro de calidad de agua importante en sistemas de recirculación debido a diversos procesos como la nitrificación y el bienestar de los peces, que están relacionados con el rango de pH en el agua. El rango de pH óptimo para las bacterias nitrificantes esta entre 7.2 y 8.0 (González et al., 2010), debajo de un pH de 6.8 las bacterias nitrificantes son inhibidas y no remueven los desechos nitrogenados tóxicos (Gerardi, 2002; Michael et al. 1995). Según Hagopian y Riley (1998) el pH óptimo para la nitrificación es 7.8.

Tabla 2: Efecto del pH sobre la nitrificación

pH	Efecto sobre la nitrificación
4.0 a 4.9	Presencia de bacterias nitrificantes, ocurre nitrificación organotrófica
5.0 a 6.7	Nitrificación por bacterias nitrificantes. Velocidad de nitrificación lenta
6.7 a 7.2	Nitrificación por bacterias nitrificantes. Velocidad de nitrificación aumenta
7.2 a 8.0	Nitrificación por bacterias nitrificantes. Velocidad de nitrificación constante

FUENTE: Gerardi (2002)

d. Alcalinidad

La alcalinidad ejerce un efecto importante en el proceso bioquímico en los sistemas de recirculación porque la nitrificación es un proceso de producción de ácido (iones H⁺)

que consume alcalinidad (fuente de carbono). La suficiente alcalinidad debe estar disponible para las bacterias en los filtros biológicos. Se ha observado que el agua natural con una alcalinidad de menos de $40 \text{ mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ afecta el proceso de nitrificación independiente del pH (Lawson, 1995). La alcalinidad en general debería mantenerse por encima de $50 \text{ mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ en el sistema de recirculación.

e. Concentraciones amoníaco y nitrito

Altas concentraciones de amoníaco y nitrito son tóxicos para la operación de los filtros biológicos. Anthonisen et al. citado por Prieto (2001) concluyeron que el ácido nitroso y el amoníaco son agentes inhibidores.

Las concentraciones permisibles de amoníaco (NH_3) dependen de la especie en cultivo, pero como regla general este debe mantenerse bajo $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Timmons et al.2002).

f. Flujo de agua

La velocidad a la cual el agua pasa a través del sustrato es importante ya que si el agua fluye muy rápido, el amoníaco no puede ser procesado y las bacterias no pueden situarse o proliferar (Morales, 1982). El influjo de agua hacia el biofiltro sumergido debe ser lo suficientemente grande para tener un flujo de nutrientes y oxígeno para las bacterias, pero lo suficientemente lento para que las bacterias tengan el tiempo de completar el proceso de nitrificación (Prieto, 2001).

Por otro lado, Jiménez- Montealegre et al. (2015) sostuvieron que el flujo de agua posee un efecto importante en la capacidad de transformación y asimilación de amonio y nitrito en un SRA usando tapetes microbianos (biofilm). Jiménez- Montealegre et al. (2015) demostraron que las concentraciones de NAT y nitritos fueron significativamente menores en los tratamientos de mayor flujo (8.4 y $12.2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) que en los de menor flujo de agua (5.2 y $6.6 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$).

g. Sólidos suspendidos totales

En los estanques acuícolas se pueden encontrar sólidos tales como alimento no digerido, heces, escamas, algas y bacterias muertas, principalmente. Estos sólidos siempre tienen efectos adversos a la calidad del agua, ya que su descomposición consume oxígeno y

cuando hay condiciones de anaerobiosis genera H_2S y amonio (Alatorre, 2007). LeRoy citado por Alatorre (2007) recomienda niveles de sólidos suspendidos totales por debajo de 25 mg.L^{-1} para sistemas acuícolas y como límite máximo una concentración de 40 mg.L^{-1} .

Por otro lado, la turbidez causada por sólidos en suspensión puede afectar a los peces. Una producción de buena a moderada de peces puede resultar en concentraciones de sólidos suspendidos entre 25 y 80 mg.L^{-1} , pero 80 mg.L^{-1} se recomienda como el máximo (Lawson, 1995).

2.6.3 Filtro biológico

Los peces liberan desechos nitrogenados principalmente como amonio excretado a través de las membranas de las branquias. Concentraciones de menos de 1 mg.L^{-1} NAT son tolerables para la mayoría de los peces (Lawson, 1995; Twarowska et al. 1997; Timmons et al. 2002). Mientras que el amoníaco es tóxico para los peces y puede ejercer estrés subletal a concentraciones de menos de 0.05 mg.L^{-1} de amoníaco (NH_3), resultando en un pobre crecimiento y baja resistencia a las enfermedades (Parker, 2000). Por otro lado, se recomiendan para el cultivo de peces niveles de nitritos por debajo de 1.0 mg.L^{-1} (Boyd, 1990; Timmons et al. 2002).

El control de la concentración de nitrógeno amoniacal no ionizado o amoníaco (NH_3) en el tanque de cultivo es el objetivo principal del diseño de los SRA. El nitrógeno amoniacal debe ser removido del tanque de cultivo a una tasa igual a la tasa de producción para mantener una concentración segura (Ebeling et al. 1995).

La exposición crónica a amoníaco aumenta la susceptibilidad de los peces a enfermedades y reduce el crecimiento. Otros estudios de efectos subletales demostraron alteraciones con concentraciones tan bajas como 0.002 - 0.15 mg.L^{-1} NH_3 , tales como la reducción de ingestión de alimento y de su asimilación (Prieto, 2001).

Para controlar los niveles de amoníaco en los sistemas de recirculación, se proporciona una amplia superficie para que las bacterias oxiden biológicamente amonio en nitrato (NO_3) relativamente inocuo. Un sustrato con gran superficie es previsto para la fijación y el crecimiento de bacterias nitrificantes. Se utilizan comúnmente como sustratos para

la biofiltración; grava, arena, cuentas de plástico, anillos y discos de plástico. La configuración del sustrato y la forma en que están en contacto con las aguas efluentes del cultivo de peces definen las características de tratamiento de agua de la unidad de filtración biológica (Ebeling et al. 1995).

2.6.4 Activación del filtro biológico

Para llevar a cabo la degradación de los compuestos nitrogenados, se requiere que el filtro biológico se encuentre activo o maduro. Es decir, que tenga suficientes bacterias para llevar a cabo dicho proceso. Por lo que se recomienda que antes de introducir a los peces al SRA se lleve a cabo la activación, misma que requiere de 20 a 45 días para estabilizarse (Trasviña et al. 2007). Según Wheaton et al. (1991) la estabilización tarda de 20 a 35 días.

Las bacterias se pueden inocular fácilmente en biofiltros de fuentes naturales o con el material de los filtros establecidos. Parker (2000) señala que para asegurar que las poblaciones bacterianas sean suficientes para eliminar el amoníaco y nitritos a tasas requeridas durante el funcionamiento, el biofiltro deberá estar acondicionado por varias semanas mediante la adición de amonio, es recomendable realizar el seguimiento de su descenso antes de sembrar los peces.

La eliminación del amoníaco en un filtro biológico pasa por tres fases hasta alcanzar el equilibrio: ausencia de nitrificación (predominio de NH_3 o NH_4^+), predominio de *Nitrosomonas* (altas concentraciones de NO_2^-) y equilibrio (acumulación de NO_3^-) (Figura 2). Una vez conseguidas las poblaciones bacterianas *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, el sistema de inmediato convierte el amonio en nitritos y luego en nitratos, que se acumula en el medio de cultivo sin dar lugar a concentraciones altas de amonio y/o nitritos. Durante la puesta en marcha del biofiltro, hay un momento denominado “periodo crítico” durante el cual se acumulan cantidades altas de nitritos (Figura 2), por lo que es conveniente empezar el sistema sin animales. Para acelerar el proceso, pueden introducirse pequeñas cantidades de amonio y de bacterias en el filtro, lo cual disminuye el periodo hasta obtener la cantidad de bacterias deseadas (Prieto, 2001).

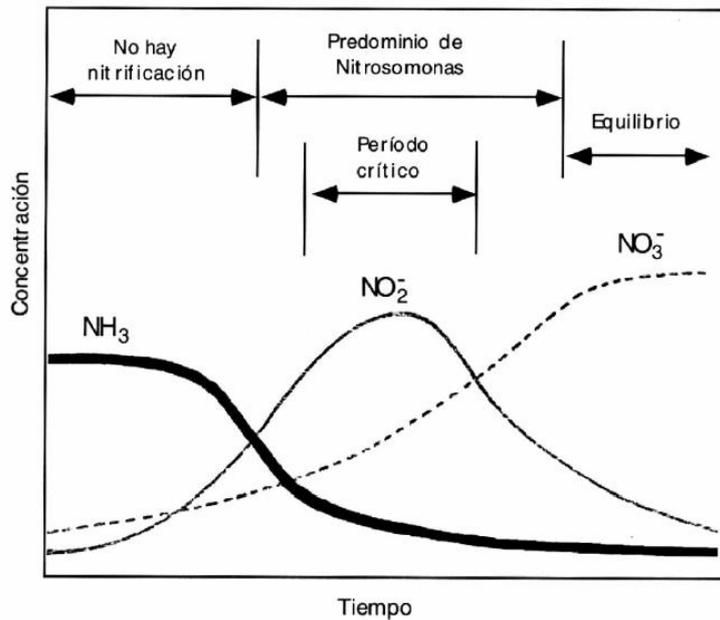


Figura 2: Esquema del desarrollo de la nitrificación en un biofiltro

FUENTE: Prieto (2001).

2.6.5 Eficiencia de eliminación de nitrógeno amoniacal total y nitritos

a. Porcentaje de eliminación de Nitrógeno Amoniacal Total (NR)

El NR se define como el porcentaje de nitrógeno amoniacal total que se remueve después de pasar a través del biofiltro. Este se calcula utilizando la ecuación siguiente:

$$NR = [(NAT_I - NAT_E) / NAT_I] \times 100\% \quad (\text{Tseng y Wu, 2004})$$

Donde:

NAT_I = Concentración de nitrógeno amoniacal total que ingresa al biofiltro (g.m^{-3})

NAT_E = Concentración de nitrógeno amoniacal total que sale del biofiltro (g.m^{-3})

b. Tasa de conversión volumétrica de nitrógeno amoniacal total (VTR)

Según Guerdat et al. (2010) la tasa de conversión volumétrica de nitrógeno amoniacal total es definida como el incremento diario de nitrógeno amoniacal convertido a nitritos por unidad de volumen. La VTR es usada como el indicador para evaluar el rendimiento de los biofiltros. Este se calcula utilizando la ecuación siguiente:

$$VTR \text{ (g NAT.m}^{-3}\text{.dia}^{-1}\text{)} = (\text{NAT}_I - \text{NAT}_E) \times \frac{Q_f}{V_b} \quad (\text{Pfeiffer y Malone, 2006})$$

Donde:

NAT_I = Concentración de nitrógeno amoniacal total que ingresa al biofiltro (g.m^{-3})

NAT_E = Concentración de nitrógeno amoniacal total que sale del biofiltro (g.m^{-3})

Q_f = Flujo de agua a través del filtro ($\text{m}^3\text{.día}^{-1}$)

V_b = volumen total del biofiltro (m^3)

c. La tasa de conversión volumétrica de nitrito (VNR)

La tasa de conversión volumétrica de nitrito debe considerar la cantidad total de NAT convertido a nitrito y es igual a:

$$VNR \text{ (g NO}_2\text{-N.m}^{-3}\text{.dia}^{-1}\text{)} = VTR + VNR_A \quad (3)$$

(Malone y Beecher, 2000)

La tasa de conversión volumétrica de nitrito (VNR_A) es la cantidad diaria total de nitrito (NO_2) convertido a nitrato (NO_3) por unidad de volumen del medio filtrante sin expandir. Y se define como:

$$VNR_A = \frac{(K_C)(Q_F)}{V_m} \times (\text{NO}_{2I} - \text{NO}_{2E}) \quad (4)$$

(Malone y Beecher, 2000; Colt et al., 2006)

Donde:

NO_{2I} = Concentración de nitritos que ingresa al biofiltro (g.m^{-3})

NO_{2E} = Concentración de nitritos que sale a del biofiltro (g.m^{-3})

K_C = factor de conversión (1.44)

Q_F = flujo de agua a través del biofiltro ($L \cdot \text{min}^{-1}$)

V_m = volumen total no expandido del medio de filtro (m^3)

Como se ilustra en la ecuación (3) las lecturas de afluentes y efluentes de nitrito deben ser sumados a las tasas volumétricas de conversión de nitrógeno amoniacal para determinar el nivel de conversión de nitrito. Debido a este fenómeno, la eficiencia de remoción aparente de nitritos puede ser cercano a cero (es decir los valores en el afluente y efluente son casi idénticos), aunque el filtro puede procesar vigorosamente nitrito a nitrato.

2.7 TECNOLOGÍA DE BIOFLOCS (TBF)

El sistema biofloc es un sistema de acuicultura que se centra en el uso más eficiente del ingreso de nutrientes con recambio mínimo o cero de agua (Avnimelech, 1999; Widanarni et al., 2012). El principio fundamental del TBF es reciclar los nutrientes mediante el mantenimiento de un alto contenido de carbono / nitrógeno (C/N) en el agua con el fin de estimular el crecimiento de bacterias heterótrofas, que convierten el amonio en biomasa microbiana (Avnimelech, 1993, 1999). La cual puede servir de alimento suplementario en el cultivo de especies que puedan aprovecharlas (De Schryver et al., 2008). Así mismo, estas comunidades microbianas aeróbicas densas y activas son manipuladas con el fin de controlar la calidad del agua (Avnimelech et al., 1989).

Los flóculos microbianos consisten en una mezcla heterogénea de microorganismos (formadores de flóculos y bacterias filamentosas), partículas, coloides, polímeros orgánicos, cationes y las células muertas (Jorand et al., 1995) y pueden llegar a medir más de $1.000 \mu\text{m}$ de tamaño.

El valor nutricional de los bioflóculos, así como sus características morfológicas, dependen de un gran conjunto de parámetros operacionales actualmente en desarrollo en los TBF. La intensidad de aireación, oxígeno disuelto, fuente de carbono orgánico, tasa de carga orgánica, la temperatura y el pH son todos los factores que influyen y que están interrelacionados (De Schryver et al., 2008).

Las proteínas microbianas son producidas en estanques cuando se añade materia orgánica como abono o alimento, que es descompuesto por los organismos microbianos en condiciones aerobias y anaerobias (Azim y Little, 2008).

El proceso de descomposición de materia orgánica en condiciones aeróbicas es más rápido que la condición anaerobia (Reddy y Patrick, 1975) y conduce a la producción de nuevas células bacterianas, que asciende a 40-60% de la materia orgánica metabolizada (Avnimelech, 1999).

2.7.1 Parámetros de calidad de agua en los TBF

a. Temperatura

La temperatura influye directamente en la cantidad de oxígeno disuelto en el agua y el metabolismo en ambos, en la comunidad microbiana y las especies cultivadas (Boyd, 1998). En los TBF, en la mayoría de los casos, la temperatura queda a merced de las condiciones climáticas, la cual puede afectar el desempeño de las especies cultivadas. Mientras tanto, los científicos están investigando la relación óptima entre la morfología del floc y la temperatura. Wilen et al. (2000) observaron que la defloculación ocurrió a bajas temperaturas (4°C) comparado con las altas temperaturas de 18-20°C, probablemente debido a una disminución de la actividad microbiana dentro de los flóculos. Peña (2010) propone que una temperatura intermedia de 20-25°C podría ser mejor para obtener flóculos estables en los TBF.

b. pH

En particular, diversos autores coinciden que los cambios en el pH influyen directamente en la estabilidad de los bioflocs y los peces cultivados en los estanques (Mikkelsen et al., 1996). El pH es un parámetro difícil de controlar en cualquier sistema de biofloc (Crab, 2010) debido a diferentes procesos químicos y biológicos en las unidades de los TBF.

c. Oxígeno disuelto

La concentración de oxígeno disuelto en el agua depende directamente de la calidad del dispositivo de aireación y la temperatura (Boyd, 1998). Crab (2010) señaló que el nivel no sólo es esencial para la actividad metabólica de las células microbianas dentro de

flóculos aeróbicos sino también la influencia de la estructura del floc. Mientras que, Wilen y Balmer (1999) observaron una tendencia hacia la formación de flóculos de mayor tamaño y más compacto en concentraciones más altas de OD. Crab (2010) reportó una mayor cantidad de bacterias filamentosas en niveles inferiores a 1.1 mg.L^{-1} de OD porque las bacterias filamentosas son mejores competidores durante condiciones anóxicas.

2.7.2 Operaciones básicas en el manejo de los sistemas con TBF

a. Mezclado y aireación

La mezcla turbulenta intensiva es un requisito esencial de los sistemas biofloc. Los sólidos deben ser suspendidos en la columna de agua en todo momento o el sistema no funcionará. Sin mezcla, los bioflocs sedimentan y pueden formarse cúmulos que consumen rápidamente el oxígeno disuelto. Estas zonas anaeróbicas pueden conducir la liberación de sulfuro de hidrógeno, metano y amoníaco que son altamente tóxicos para los peces. La turbulencia excesiva puede presentarse como un desafío para los animales cultivados por la dificultad para localizar el alimento (Hargreaves, 2013).

En comparación con el agua en los estanques de acuicultura o la mayoría de los sistemas de recirculación, el agua en los sistemas biofloc tiene una elevada tasa de respiración causada por la alta concentración de sólidos en suspensión. La respiración del agua en los sistemas biofloc *in situ* de aguas marrones es normalmente alrededor de $6 \text{ mg O}_2\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, por ello es absolutamente esencial proporcionar la aireación u oxigenación suficiente para satisfacer esta alta demanda y mantener la concentración de oxígeno en niveles seguros. Estas altas tasas de respiración además indican que el tiempo de respuesta en caso de un fallo del sistema es muy corto, a menudo menos de 1 hora. Por lo tanto, el monitoreo, alarmas y sistemas energéticos de emergencia son elementos obligatorios de los sistemas de bioflocs (Hargreaves, 2013).

b. Manejo de sólidos sedimentables

En los sistemas bioflocs, se permite la acumulación de sólidos residuales y los sólidos adicionales que son producidos por la aireación intensiva y las adiciones de carbohidratos.

Una medida rápida y sencilla de medir los sólidos sedimentables (SS) es mediante el uso de los conos Imhoff o conos de sedimentación. Los conos tienen graduaciones en la parte externa que son usadas para medir el volumen de sólidos que sedimentan de 1 L de agua del sistema, el intervalo de tiempo estandarizado y conveniente, usualmente es de 10 a 20 minutos (Hargreaves, 2013).

Típicamente los sistemas de bioflocs funcionan a concentraciones de sólidos suspendidos menores de 1000 mg.L^{-1} , y a menudo, menos de 500 mg.L^{-1} . La concentración de sólidos en suspensión de 200 a 500 mg.L^{-1} es suficiente para una buena funcionalidad del sistema y controlará el nitrógeno amoniacal sin una excesiva respiración de los microorganismos que constituyen los bioflocs (Hargreaves, 2013).

Con el tiempo, y con una mezcla suficiente, los sólidos se pueden acumular a niveles indeseables (2000 a 3000 mg.L^{-1}), este exceso es contraproducente, porque los sólidos pueden obstruir las branquias de los peces y además se requerirá aumentar la energía necesaria para mezclar y mantener los sólidos en suspensión, además de aireación para satisfacer la demanda de oxígeno por la respiración elevada de los microorganismos del agua (Hargreaves, 2013).

Una alternativa para el manejo de sólidos en los sistemas bioflocs superintensivos con altas tasas de alimentación, son los tanques sedimentadores o también llamados clarificadores. Estos pueden ser operados de forma continua si son diseñados de modo que un pequeño porcentaje del volumen total del tanque (1 a 5%) es clarificado cada día (Hargreaves, 2013).

La concentración de sólidos debe manejarse como un compromiso entre la funcionalidad del sistema biofloc como un biofiltro (para el control de amoníaco) y la demanda de oxígeno del agua, que aumenta directamente con la concentración de sólidos.

c. Adición de carbono

El modo de aplicación y la cantidad de carbono orgánico a suministrar siguen siendo temas de investigación en sistemas TBF en diferentes ambientes. Aunque algunos científicos prefieren la aplicación de pequeñas cantidades continuamente, otros recomiendan grandes dosis a intervalos regulares (Crab, 2010). Por otro lado, adiciones continuas de fuentes de carbono pueden elevar las concentraciones de nitrógeno amoniacal total (NAT) y nitritos a niveles críticos en los estanques de biofloc (Avnimelech, 1999).

La biomasa microbiana almacena reservas energéticas celulares, como el poli- β -hidroxibutirato, en condiciones de exceso de la disponibilidad de nutrientes, permitiendo a los microorganismos mantenerse en los períodos de escasez de nutrientes. Los productos de almacenamiento de energía pueden ser de importancia por el valor agregado que los bioflocs brindan a la acuicultura. Como tal, puede que no sea aconsejable aplicar fuentes de carbono orgánico continuamente si el objetivo es producir materiales de reserva (Phulia et al., 2012).

Es posible calcular teóricamente la cantidad de materia orgánica necesaria para un estanque acuícola, basado en la cantidad de nitrógeno excretado por la especie cultivada. La fuente de carbono orgánico determinará en gran medida la composición de los flóculos producidos (De Schryver, 2008).

d. Manejo de la alcalinidad

El agua en los sistemas de bioflocs debería ser mantenida con amplias reservas de alcalinidad porque está constantemente agotada por reacciones con ácidos añadidos al agua.

La actividad de las bacterias nitrificantes es responsable de la mayoría de las pérdidas de la alcalinidad en sistemas bioflocs intensivos. Ebeling et al. (2006) reporta que las bacterias autótrofas (nitrificantes) consumen 7.05 g alcalinidad.g N⁻¹. Con el tiempo, el ácido producido por la nitrificación desgasta la reserva alcalina en el agua. Una vez que se agota la alcalinidad, el pH puede caer abruptamente, provocando la inhibición de la función bacteriana, incluyendo a las bacterias nitrificantes (Hargreaves, 2013).

La alcalinidad en TBF debe mantenerse entre 100 y 150 mg.L⁻¹ de CaCO₃ por adiciones periódicas de bicarbonato de sodio. Incluso con adiciones regulares, se debería tener un programa de monitoreo regular (al menos semanalmente) para evaluar la alcalinidad (Hargreaves, 2013).

2.7.3 Incidencias en el manejo de los sistemas con TBF

a. *Bulking* filamentoso

De vez en cuando y de manera impredecible los sistemas biofloc desarrollan un gran número de bacterias filamentosas bajo condiciones adversas (Arellano, 2005). Este efecto es llamado "*bulking* filamentoso", que provoca que los flóculos sedimenten lentamente y hace más difícil el control de la concentración de sólidos. Estas bacterias filamentosas pueden también obstruir las branquias de los peces y causar mortalidad (Hargreaves, 2013).

Las bacterias filamentosas tienden a tener una ventaja sobre las bacterias no filamentosas debido a su mayor relación de superficie a volumen. Por otra parte, las filamentosas pueden penetrar fuera de los flóculos y por lo tanto estar expuestos a más altas concentraciones de sustratos que las bacterias no filamentosas, que crecen principalmente dentro de los flóculos (Martins et al., 2003).

Diversos autores manifiestan que las causas del *bulking* filamentoso son: las bajas concentraciones de oxígeno disuelto, la deficiencia de nutrientes como nitrógeno y fósforo, bajo pH, presencia de detergentes no biodegradables, entre otros (Subramanian et al., 2009).

Por otro lado, Arellano (2005) menciona que otra causa del *bulking* es por el agua presente dentro de los flóculos de forma que las células se hinchan con agua hasta el punto que se reduce la densidad y no sedimentan y por último a un exceso de polímeros generados por los microorganismos.

b. Acumulación de nitratos

El nitrato se acumula en la mayoría de los sistemas bioflocs debido a la nitrificación en curso. Si no se controla, la concentración de nitratos reflejará la carga de alimento

acumulada en el sistema. La acumulación de nitrato puede ser regulada por dilución a través del recambio de agua, pero esto va en contra del propósito del uso intensivo del agua y reduce la bioseguridad (Hargreaves, 2013).

Las unidades de desnitrificación se utilizan como parte de una estrategia de conservación del agua y de bioseguridad. Estas unidades son operadas bajo condiciones generalmente quietas y anóxicas. Los sólidos se pueden derivar a un tanque de flujo lateral y destinado para la acumulación. Un bajo flujo del agua de cultivo, suficiente para proporcionar un tiempo de retención de 1 a 2 días, es suficiente para controlar la concentración de nitrato. La acumulación de sólidos alcanzará un estado estacionario. En condiciones anóxicas, el suministro constante de nitrato se utiliza como oxidante para oxidar continuamente la materia orgánica, aunque puede ser necesario un fuente de carbono orgánico simple (azúcar) para reforzar el proceso. El bicarbonato es liberado por las bacterias como un subproducto de este proceso. Por lo tanto, la alcalinidad que se perdió de la nitrificación puede ser recuperada por desnitrificación (Hargreaves, 2013).

2.8 BALANCE DE NITRÓGENO

El balance de nitrógeno permite conocer la carga de nitrógeno que entra a un sistema, así como establecer el destino del mismo dentro del sistema, mediante el análisis de la calidad del agua y los procesos en los sedimentos. El balance de nitrógeno en los estanques es un paso básico para el estudio cuantitativo de la eficiencia de utilización del alimento, la fertilidad del estanque, la calidad de agua y los procesos en los sedimentos (Avnimelech y Lacher, 1979).

Las bacterias nitrificantes y desnitrificantes, así como el fitoplancton, juegan un papel muy importante en la reutilización del nitrógeno y en reducir su pérdida (Burford et al. Citado por Gonzales-Feliz y Perez-Velasquez, 2006).

El nitrógeno que no es incorporado en biomasa o en productividad primaria, *e.g.* bacterias, fitoplancton o zooplancton, permanece dentro del sistema de cultivo en diferentes formas, tales como nitrógeno orgánico ó inorgánico disuelto, también puede ser retenido en el sedimento o en sólidos suspendidos en la columna de agua e incluso pudiera perderse por volatilización de amoníaco (Thoman et al., 2001).

Diversos estudios del balance de nitrógeno muestran que un porcentaje importante del nitrógeno suministrado en forma de alimento suele permanecer en forma de nitrógeno orgánico dentro del sistema al final de un ciclo de cultivo. Thakur y Lin (2003) reportan en su estudio que la mayor pérdida de este nutriente, 14-53%, se observó al verificar su hundimiento y acumulación en los sedimentos del fondo de los tanques de concreto.

El nitrógeno inorgánico es otra fracción importante del balance de nitrógeno. Del 57% del nitrógeno que fue descargado en los efluentes de una granja de camarón, Jackson et al. (2003) mencionan que el nitrógeno amoniacal total en su estudio representó un 12-21%.

El nitrógeno no recuperado, esta fracción del balance es sumamente variable y difícil de explicar, pues su destino es incierto. En general, estudios anteriores asumen que dicha fracción corresponde a procesos de denitrificación y/o volatilización de amoníaco al ambiente, que pudiera intensificarse por efecto de la aireación vigorosa y alto pH. Jackson et al. (2003) mencionan que también es posible que parte del nitrógeno no recuperado sea secuestrado en los sedimentos acumulándose en forma de materia orgánica.

En camaronicultura, los balances de masa pueden servir como guía para mejorar el manejo de los estanques de cultivo y optimizar el uso de los recursos (fertilizante, alimento, tasa de recambio de agua), además de ser útiles de evaluar el impacto de las descargas de las granjas sobre el ambiente y comparar la eficiencia y el impacto potencial de los sistemas productivos con características similares (Casillas-Hernandez et al., 2006; Miranda-Baeza et al., 2007).

Audelo (2011) menciona en un estudio del cultivo de camarón que la suma de las masas de los nutrientes que entran a los estanques debe ser necesariamente igual al total de los egresos, por lo cual el balance de nutrientes de un sistema de cultivo puede ser representado mediante un modelo de caja simple, el cual incluye las posibles rutas de ingreso y de egreso, según la ecuación:

$$F + f + I + S = R + H + M + O \text{ (Hopkins et al., 1993)}$$

Donde los ingresos son:

F = alimento balanceado

f = fertilización

I = nutrientes disueltos y particulados presentes en el agua de ingreso

S = postlarvas sembradas

Mientras que los egresos son representados por:

R = acumulación sedimentaria (que incluye meio- y microbiota asociados a los sedimentos),

H = biomasa cosechada

M = macrofauna asociada

O = agua de egreso

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR Y TIEMPO DE EJECUCIÓN

El estudio se llevó a cabo en un invernadero del Centro de Investigación Piscícola (CINPIS) de la Facultad de Pesquería en la Universidad Nacional Agraria La Molina. La experimentación constó de dos fases, siendo la fase preliminar de 1 mes y la fase experimental de 2 meses.

3.2 UNIDADES EXPERIMENTALES

Se utilizaron 4 tanques circulares de fibra de vidrio de 2 m³ de capacidad máxima, con desagüe central de 3 pulgadas de diámetro (Figura 3). El volumen de trabajo fue de 1.5 m³ con un tirante de agua de 54 cm para ambos sistemas.

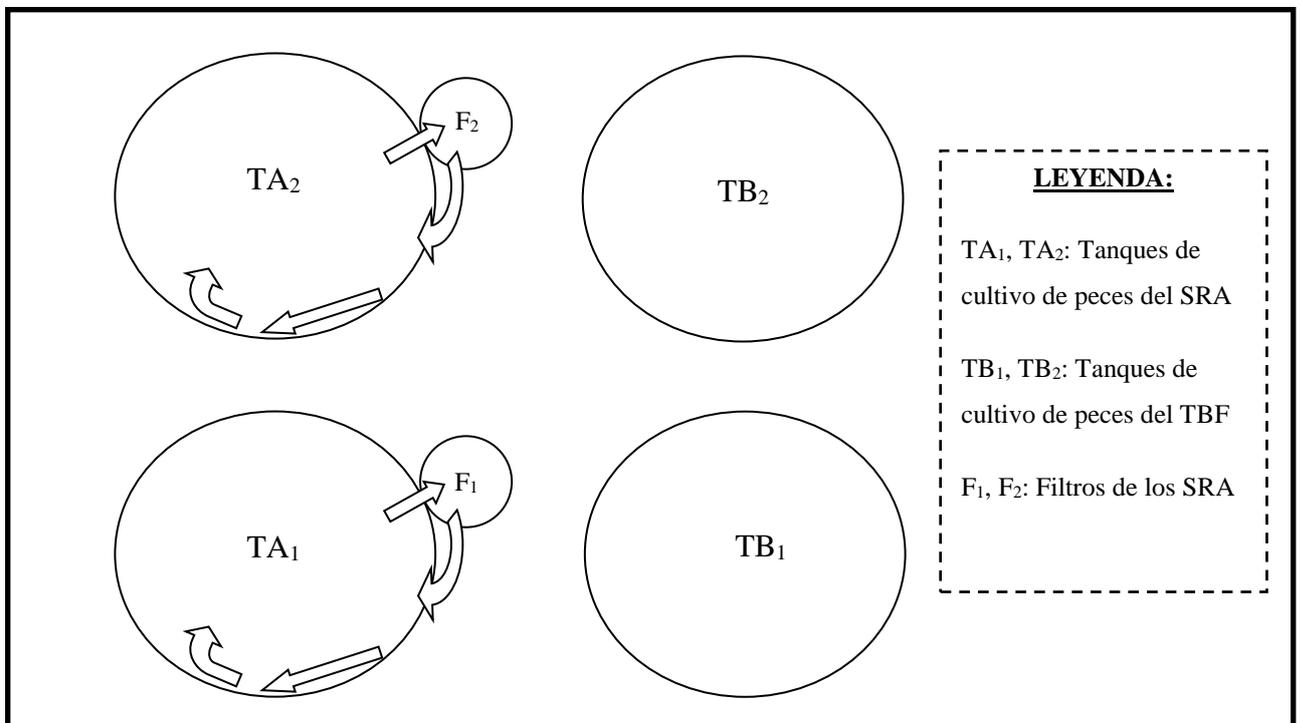


Figura 3: Distribución de unidades experimentales y filtros dentro del invernadero (Vista de planta).

FUENTE: Elaboración propia

Así mismo, se instalaron toldos oscuros de malla raschell (90% de sombra) sobre las unidades de cultivo para impedir el paso de la radiación solar y limitar la fotosíntesis en los tanques, asumiendo que la actividad de las bacterias fotoautótrofas fue escasa o nula.

3.3 MATERIAL BIOLÓGICO

Se trasladaron 300 alevines de paiche, de 2.3 g de peso y 7 cm de longitud aproximadamente, provenientes de un cultivo acuícola de Yurimaguas, provincia de Loreto. Los alevines fueron aclimatados en un invernadero del CINPIS en 5 tanques rectangulares de concreto. Así mismo, se realizó un cambio gradual de su dieta, del consumo de alevines de tilapia al consumo de alimento balanceado. Los alevines fueron alimentados 5 veces al día mediante una ración de alimento extruído para trucha de la marca NALTECH, con 42% de proteína y a una tasa de alimentación de 5%. La frecuencia de alimentación se mantuvo en la fase experimental. Se realizaron biometrías semanales para registrar el crecimiento en peso (g) y talla (cm) y para acostumbrar a los animales al manejo. Se alimentó a los peces hasta alcanzar un peso y talla aproximado de 300 g y 35cm, respectivamente. Con estas condiciones se inició el experimento.

3.4 INSTALACIÓN DE SISTEMAS

3.4.1 Sistemas de Recirculación de Acuicultura

Instalación del filtro mecánico y biofiltro

Se instalaron dos sistemas de recirculación de acuicultura, constituidos cada uno por una unidad de cultivo (tanque de fibra de vidrio de 2 m³), un sistema de tratamiento externo de filtración mecánica o remoción de sólidos y un biofiltro (tipo filtro sumergido). El sistema de filtración mecánico y el biofiltro se instalaron dentro de un cilindro de plástico. Este sistema de filtros recibió agua del tanque de cultivo mediante un sistema de bombeo y aireación (airlift). Para la remoción de sólidos se instalaron fibras sintéticas (perlón y dunlopillo) dispuestas en capas sobre un recipiente circular de plástico perforado, colocado en la parte superior del biofiltro. El biofiltro estuvo constituido de tubos corrugados de PVC de 1.8 cm de diámetro y de 1.5 cm de largo, ocupando un volumen de 0.037 m³ y un área superficial activa de 25 m² aproximadamente.

El diseño del biofiltro fue adaptado de un SRA para el cultivo de camarones en Tarapoto (Figura 4).

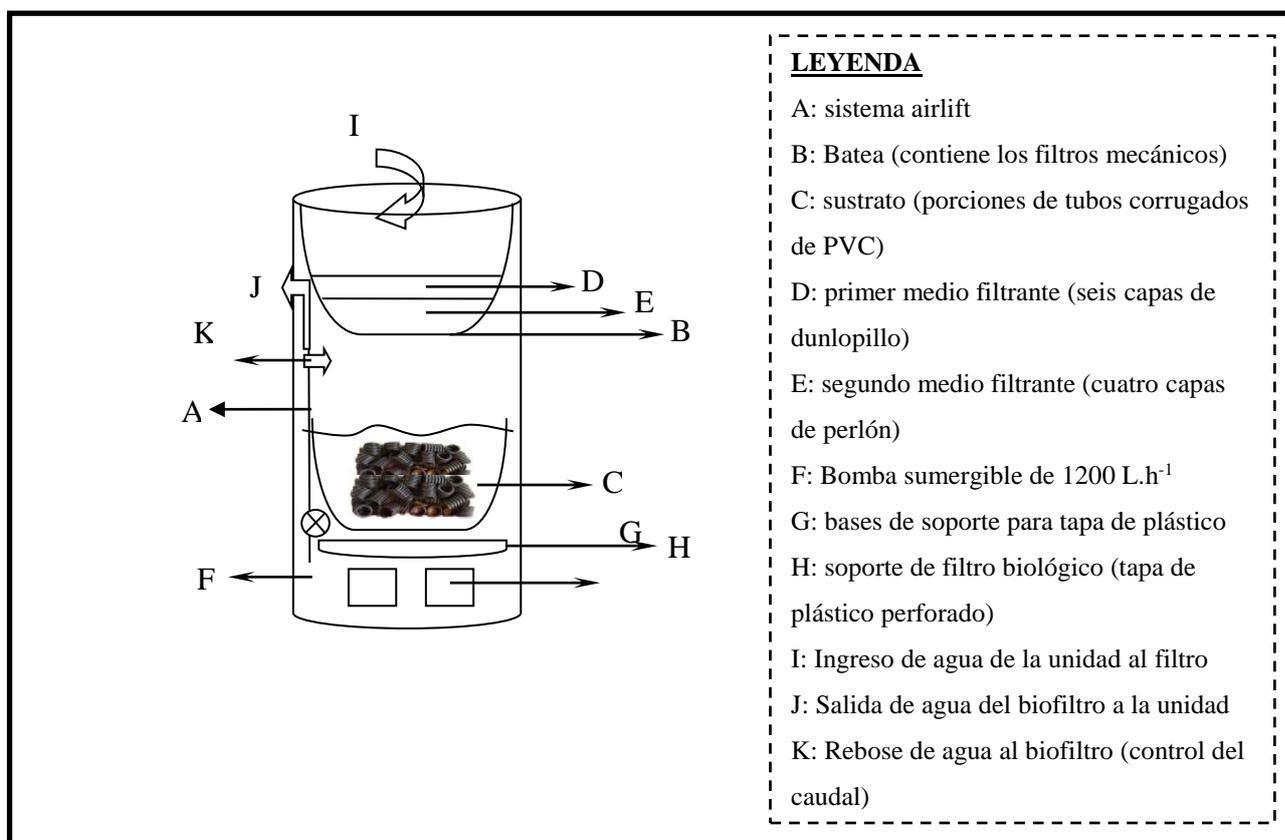


Figura 4: Filtro sumergido y sus componentes

FUENTE: Elaboración propia

3.4.2 Sistemas de Tecnología de Bioflocs

Instalación de biorreactores

El sistema biofloc estuvo conformado por dos tanques de fibra de vidrio de 2 m³, en los cuales se mantuvo el control de la relación C/N, la formación de sólidos suspendidos y la remoción de amonio por medio de bacterias heterotróficas utilizando como sustrato melaza. Los tanques de cultivo fueron llenados con 1500 L de agua cada uno, con flocs bacterianos provenientes de bioreactores maduros que mantenían tilapias juveniles a una carga de 2.5 kg.m⁻³. Antes de la siembra de paiches se homogeneizó el agua de los bioreactores para obtener características similares de calidad de agua. El mantenimiento del sistema durante la fase pre experimental y experimental se realizó siguiendo el protocolo descrito por Mejía (2014), empleado en experimentos anteriores.

3.5 MANEJO Y FUNCIONAMIENTO DE LOS SISTEMAS

3.5.1 Sistemas de Recirculación de Acuicultura

a. Activación del biofiltro

La activación del filtro biológico se realizó colocando los sustratos en un volumen inicial de 38 L de agua añadiendo un inóculo de bacterias nitrificantes de la marca “Nutrafin cycle” y adicionando 1 mg.L⁻¹ de cloruro de amonio (NH₄Cl) diariamente. El propósito fue la activación de las bacterias *Nitrosomonas sp.* y *Nitrobacter sp.* hasta la estabilización del sistema, para ello se realizó mediciones interdiarias para evaluar el comportamiento del NAT.

b. Manejo de caudales

Luego de la activación del biofiltro, este se conectó a las unidades experimentales de cultivo y se regularon los caudales, mediante la válvula de ingreso de aire (sistema airlift) y la válvula de rebose dentro del biofiltro en ambos sistemas para que los caudales sean iguales. El caudal de trabajo al ingreso del filtro mecánico fue de 0.3 m³.h⁻¹ y el tiempo de retención hidráulica de 5 horas aproximadamente.

c. Limpieza de las estructuras del filtro

La limpieza de los filtros mecánicos se realizó diariamente a las 8:30 a.m., debido a que estos se colmataban de alimento no consumido, heces y demás materia orgánica. Para ello se detuvo el funcionamiento de los filtros para retirar las esponjas sucias, las cuales se limpiaron cuidadosamente con agua y se secaron al sol, finalmente se realizaba un cambio de esponjas nuevas y se volvía a encender el sistema airlift nivelando los caudales en ambas unidades. Mientras que la limpieza de los tubos, manguerillas, bases de soporte y otras estructuras se realizó de forma quincenal apagando el sistema airlift y desacoplando sus partes.

d. Reposición de agua

Se realizaron reposiciones de agua a los tanques de cultivo debido a las pérdidas producidas por la evaporación, por el retiro de heces y por la limpieza del biofiltro.

3.5.2 Sistemas de Tecnología de Bioflocs

a. Mantenimiento de la relación C/N

Para mantener la relación de C/N de 15:1 se realizó la adición de melaza de caña. El suplemento de melaza, como fuente principal de carbono para las bacterias heterotróficas del sistema, se realizó en la mañana, todos los días. Esta cantidad fue calculada en función del alimento, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad melaza (g)} = \frac{D \times A \times \% N \times \% P \times \% Nex}{\% C} \quad (\text{De Schryver et al., 2008})$$

Donde:

D = Diferencia entre la relación C/N que se quiere alcanzar (15:1) y la relación C/N del alimento (7:1).

A = cantidad de alimento en gramos por día según tasa de alimentación

% N = porcentaje de nitrógeno en la proteína, 16% (Craig y Helfrich, 2002)

% P = porcentaje de proteína en el alimento (43.8 %, relación C/N = 7)

%Nex = porcentaje de nitrógeno del alimento que termina en el agua luego de la alimentación y de la excreción en el cultivo de peces, 75% (Piedrahita, 2003).

Una vez determinada la cantidad de melaza se diluyó con el agua de cultivo y se adicionó a cada biorreactor filtrando la solución con una bolsa de tela (a base de poliéster, nylon y seda) de 300µ. La adición fue de forma homogénea y gradual removiendo el agua. La composición proximal aproximada se muestra en la Tabla 4.

Tabla 3: Composición proximal de la melaza de caña

Contenido	Porcentaje (%)
Proteína cruda	3
Extracto libre de nitrógeno	63
Grasa total	0
Fibra total	0
Cenizas	8.1
Calcio	0.8
Fosforo	0.08
Potasio	2.4
Sodio	0.2
Cloro	1.4
Azufre	0.5

FUENTE: Adaptado de Curtin (1983)

b. Mantenimiento de alcalinidad

Debido a la nitrificación bacteriana, el pH del agua tiende a disminuir por el consumo de alcalinidad (CaCO_3) y la producción de dióxido de carbono, incrementando la acidez del agua (Masser et al., 1999), es por ello que la alcalinidad fue regulada en estos sistemas.

La alcalinidad se mantuvo alrededor de $100 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, como es recomendado por Hargreaves (2013) y Kubitza (2011) para sistemas biofloc, y se reguló con la dosificación de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) siguiendo la tabla propuesta por Loyless y Malone (1997) para incrementar en la concentración deseada (Anexo 1). El NaHCO_3 se agregó diluyéndolo en un volumen de agua del propio sistema y se adicionó gradualmente.

c. Manejo de sólidos sedimentables

El manejo de sólidos sedimentables se realizó cuando estos se elevaban abruptamente, para ello se extrajo cierto volumen de cada unidad para disminuir el volumen de sólidos y llegar a concentraciones menos nocivas. Adicionalmente se tomó una muestra de agua para realizar las mediciones de nitrógeno del agua extraída en cada remoción de sólidos. Valores que al final de experimento fueron usados para realizar el balance de nitrógeno.

d. Sistemas de aireación

Las unidades biofloc contaron con 3 piedras difusoras cada uno, con un caudal de $1.2 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ por cada aireador. Estos se distribuyeron de forma triangular de tal manera que mantuvieran los bioflocs en suspensión en la columna de agua. Debido al movimiento de los peces los aireadores se reacomodaban para evitar dejar áreas sin mezcla de aguas y prevenir la formación de zonas anóxicas en los tanques.

3.6 CONTROL DE LA CALIDAD DEL AGUA

3.6.1 Parámetros de calidad de agua

Las muestras de agua de cada sistema fueron colectadas en la columna de agua en botellas transparentes de plástico y transportadas inmediatamente al laboratorio calidad de agua del CINPIS para las respectivas determinaciones (Tabla 4):

a. Temperatura del agua, oxígeno disuelto, potencial de hidrógeno, conductividad eléctrica

La temperatura, el oxígeno disuelto, pH y conductividad eléctrica fueron medidos diariamente a las 8:00 a.m. y a las 3:00 p.m. con el multi-parámetro de la marca HACH modelo HQ40d.

b. Alcalinidad total

La alcalinidad total fue determinada mediante el método volumétrico, se determinó por titulación de una muestra de 20 ml con una solución valorada de ácido sulfúrico 0.02N y mediante el uso del indicador mixto, a base de rojo de metileno y verde de bromocresol. Esta medición se realizó dos veces a la semana a las 3:00 p.m. según el método de APHA (2005).

c. Nitrógeno amoniacal total (NAT)

El Nitrógeno amoniacal total fue medido tres veces a la semana a las 3:00 p.m. mediante el método Nessler con el espectrofotómetro DR 3900 de la marca HACH.

d. Nitratos y nitritos

Estos fueron medidos tres veces en la semana a las 3:00 p.m. mediante los métodos de Reducción de cadmio y diazotización respectivamente con el espectrofotómetro DR 3900 de la marca HACH.

e. Sólidos sedimentables

Estos fueron medidos mediante el cono Imhoff o de sedimentación (1 L), esperando 20 minutos para el asentamiento de sólidos, como lo indica Hargreaves (2013). Esta medición de rutina fue realizada todos los días a las 8:00 a.m., solo para los sistemas biofloc.

f. Sólidos suspendidos totales

Según metodología de APHA (2005), se realizó previamente un tratamiento al papel de fibra de vidrio, secándolo en una estufa de 103 a 105°C por una hora para determinar el peso exacto del papel (P_1). Los sólidos suspendidos fueron determinados mediante el filtrado de 100 ml de muestra (V) que permitió obtener un residuo entre 2.5-200 mg en papel de fibra de vidrio de 1 μ m de retención. Para el filtrado se utilizó una bomba de vacío. Los sólidos colectados fueron secados en una estufa de 103 a 105°C por una hora. Luego los sólidos se enfriaron en un desecador hasta temperatura ambiente y se determinó el peso del papel con los sólidos (P_2) en una balanza de precisión. La concentración de SST se determinó con la ecuación:

$$\text{SST (mg/L)} = \frac{(P_2 - P_1) * 1000}{V}$$

3.6.2 Método, frecuencia, lugar de muestreo y volumen de muestra

El método, la frecuencia, el lugar de muestreo y el volumen de muestra tomado para las determinaciones de los parámetros físicos y químicos de calidad de agua se presentan con mayor detalle en el Tabla 5.

Tabla 4: Control de parámetros físico químicos de calidad de agua en ambos sistemas

Parámetros	Unidades	Método	Frecuencia	Lugar de muestreo	Volumen muestra (ml)
Temperatura del agua	°C	Método electrométrico	diaria	Dentro de cada tanque	200
Oxígeno disuelto	mg.L ⁻¹	Método electrométrico	Diaria	Dentro de cada tanque	200
Potencial de hidrógeno	unid.	Método electrométrico	Diaria	Dentro de cada tanque	200
Conductividad eléctrica	mS.cm ⁻¹	Método conductimétrico	Diaria	Dentro de cada tanque	200
Alcalinidad	mgCaCO ₃ .L ⁻¹	Método volumétrico	Interdiaria	Dentro de cada tanque	20
Nitrógeno amoniacal total	mg.L ⁻¹	Método Nessler	Interdiaria	Dentro de cada tanque, ingreso y salida del biofiltro	200
Nitratos	mg.L ⁻¹	Reducción de Cadmio	Interdiaria	Dentro de cada tanque, ingreso y salida del biofiltro	200
Nitritos	mg.L ⁻¹	Diazotación	Interdiaria	Dentro de cada tanque , ingreso y salida del biofiltro	200
Nitrógeno total	mg.L ⁻¹	Método Kjeldahl	Inicio y final	Dentro de cada tanque	1000
Sólidos sedimentables	ml.L ⁻¹	Método gravimétrico	Diaria	Dentro de los tanque con TBF	1000
Sólidos suspendidos totales	mg.L ⁻¹	Método gravimétrico	Interdiaria	Dentro de cada tanque	100

FUENTE: Elaboración propia

3.7 MANEJO DE LA ALIMENTACIÓN

Los juveniles de paiche fueron alimentados con alimento balanceado extruído de la marca NALTECH con 43.8% de proteína (Tabla 6), suministrados con una frecuencia de cinco veces al día, en los horarios de 9:00 a.m., 11:00 a.m., 1p.m., 3:00 p.m. y 5:00 p.m. y a una tasa de alimentación de 3% de la biomasa corporal como es recomendado por Del Risco et al. (2008) en estudios nutricionales experimentales.

Tabla 5: Composición proximal del alimento balanceado para paiches

Composición	Porcentaje (%)
Humedad	7.41
Proteína total	43.78
Grasa	11.41
Fibra Cruda	1.46
Ceniza	9.42
Extracto Libre de Nitrógeno	26.52

FUENTE: Informe de Ensayo - LENA

3.8 BIOMETRÍAS

Las biometrías fueron realizadas semanalmente, se registró el crecimiento en peso (g) y la longitud total (cm). Para ello se utilizó una balanza electrónica de marca OHAUS con una sensibilidad de 0.1 g y una cinta métrica en cm. La biometría fue del total de individuos de cada sistema.

3.9 FASE EXPERIMENTAL

3.9.1 Siembra de peces

La fase experimental inició cuando en el filtro biológico se desarrolló la nitrificación, reflejada por el incremento de los niveles de nitritos y nitratos, y la disminución de los niveles de NAT. En este punto se trasladaron los peces a las unidades de cultivo y se homogeneizaron las biomásas en ambos sistemas, siendo la densidad inicial de cultivo, 4.3 kg.m⁻³.

3.9.2 Determinación de compuestos nitrogenados orgánicos

a. Evaluación del nitrógeno en el floc bacteriano

Para la obtención del floc se filtró de 10 a 20 L de agua del sistema con una malla fina de nylon de 30 μ . Se secaron las muestras iniciales y finales de floc en una estufa a temperatura de 65°C durante 2 horas, luego fueron molidas en un mortero hasta obtener un polvo fino, el cual fue llevado al laboratorio para el posterior análisis de proteína total (nitrógeno).

b. Evaluación de nitrógeno en peces

Al inicio del experimento se tomó una muestra de 1 a 2 peces del lote inicial, recolectado al azar y que en peso seco representó 200 g aproximadamente. Mientras que al final del experimento se sacrificó un pez de cada unidad experimental. Las muestras fueron secadas en un horno secador de aire caliente a 70°C durante 24 horas, luego fueron molidas hasta obtener un polvo fino, el cual fue llevado al laboratorio para el posterior análisis de proteína total (nitrógeno) mediante el método Kjeldahl.

La diferencia de pesos de las muestras húmedas y secas permitió obtener la fracción de materia seca tanto en los peces como en los flocs.

Los análisis de proteína total (nitrógeno) del floc y los peces fueron realizados en el Laboratorio de Evaluación y Nutrición de Alimentos (LENA) de la UNALM.

3.9.3 Análisis temporal de la transformación de los compuestos nitrogenados inorgánicos (NAT, N-NO₂, N-NO₃)

El comportamiento del compuesto nitrogenado inorgánico (NAT, N-NO₂, N-NO₃) fue analizado en un tiempo determinado en ambos sistemas, para ello fue usado el valor promedio de NAT, nitritos y nitratos de los tanques de cultivo, a lo largo de la fase experimental.

3.9.4 Eliminación de nitrógeno inorgánico en los sistemas SRA

En el SRA la remoción de nitrógeno fue evaluada en función a la eficiencia del biofiltro con las fórmulas de porcentaje de eliminación del nitrógeno amoniacal (NR), la tasa de

conversión volumétrica de nitrógeno amoniacal (VTR) y la tasa de conversión volumétrica de nitrito (VNR). Así mismo, se determinó el caudal de ingreso al biofiltro y el volumen que ocupó el lecho filtrante que fueron usados para determinar el VTR.

3.9.5 Principales vías de eliminación de nitrógeno inorgánico en los sistemas

Para identificar las principales vías de transformación de nitrógeno inorgánico se realizó un balance para comparar la distribución de los componentes nitrogenados en las unidades de cultivo. Así mismo, se realizó un análisis de componentes principales para identificar los principales procesos biológicos relacionados con la transformación de nitrógeno inorgánico. A continuación, se explica cómo se aplicó cada proceso:

a. Estimación del balance de nitrógeno

El nitrógeno fue medido en los ingresos, salidas, biomasa y acumulación en los sistemas. El balance de nitrógeno fue estimado en base a los ingresos de agua, biomasa inicial en cada sistema, biofloc y alimento balanceado; y las salidas calculadas en base a la biomasa cosechada, el agua drenada y el floc acumulado. Se aplicó la metodología descrita por González-Félix et al. (2007) en un estudio realizado en el cultivo de Langostino *Litopenaeus vannamei* en sistemas de cero recambios de agua.

La cantidad de nitrógeno (g) que ingresó en forma de alimento balanceado fue estimado de la siguiente forma:

$$\text{Nitrógeno en el alimento (g)} = \text{Alimento total suministrado durante la fase experimental (g)} \times \text{contenido de materia seca del alimento (\%)} \times \text{N del alimento en base seca (\%)}$$

El nitrógeno inorgánico disuelto (nitratos, nitritos, NAT) que ingresó o salió de los sistemas por los recambios de agua fue calculado de la siguiente forma:

$$\text{Nitrógeno como nitrato/nitrito/NAT (g)} = \text{Concentración del compuesto nitrogenado (mg.L}^{-1}\text{)} \times \text{volumen total de agua (L)} \times 10^{-3}$$

El nitrógeno en el biofloc (g) al iniciar y finalizar el experimento fue cuantificado de la siguiente manera:

$$\text{Nitrógeno en el floc (g)} = \text{Concentración de SST (mg.L}^{-1}\text{)} \times \text{Volumen total agua (L)} \times \text{contenido de materia seca en el floc (\%)} \times \text{N en el floc en base seca (\%)} \times 10^{-3}$$

El nitrógeno contenido en la carcasa de los peces al iniciar y finalizar el experimento fue calculado de la siguiente forma:

$$\text{Nitrógeno en peces (g)} = \text{biomasa total (g)} \times \text{contenido de materia seca en peces (\%)} \times \text{porcentaje de N en la carcasa de peces (\%)}$$

Además, el nitrógeno total de ingreso (NTI), considerado como el nitrógeno introducido con el alimento fue considerado como el 100% y equivalente al nitrógeno total recuperado (NTR), expresado como:

$$\text{NTR (g)} = (\text{N biomasa final} + \text{N orgánico final} + \text{N inorgánico final}) - (\text{N biomasa inicial} - \text{N orgánico inicial} - \text{N inorgánico inicial})$$

Donde:

N biomasa inicial/final (g) = es la cantidad de nitrógeno contenido en la biomasa de paiches al iniciar o finalizar el experimento.

N orgánico inicial/final (g) = es la cantidad total de nitrógeno orgánico presente en el agua al iniciar o finalizar el experimento.

N inorgánico inicial/final (g) = es la cantidad total de nitrógeno inorgánico en el agua, incluyendo nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos al iniciar o finalizar el experimento.

El nitrógeno no recuperado del sistema es la estimación del nitrógeno no contabilizado (NNC), que fue calculado por diferencia:

$$\text{NNC (\%)} = 100\% - \text{NTR}$$

Se llevó un registro detallado de los ingresos y salidas del nitrógeno en cualquier forma, ya sea para la toma de muestras, limpieza de los sistemas, compensación por evaporación y mortalidad.

Todos los valores para la estimación del balance de nitrógeno fueron expresados en gramos y en porcentaje.

b. Análisis de Componentes Principales (ACP)

El Análisis de Componentes Principales (ACP) tiene como objetivo transformar un conjunto de variables originales, en un nuevo conjunto de variables (sin perder información), aplicando una combinación lineal de las originales, denominadas componentes principales (factores). El ACP trata de hallar estos componentes o factores, los cuales se caracterizan por estar correlacionadas entre sí, y que explican la mayor parte de la varianza total (UA, 2011)

En el ACP, el primer factor o componente es aquel que explica la mayor parte de la varianza total, mientras que el segundo factor es aquel que explica la mayor parte de la varianza restante, es decir, la que no es explicada por el primero y así sucesivamente (UA, 2011).

Este análisis permitió identificar las vías de transformación de nitrógeno inorgánico en ambos sistemas mediante una correlación de las variables físico químicas de calidad de agua medidas a lo largo de la fase experimental.

3.10 ANÁLISIS DE DATOS

Los datos de calidad de agua fueron tabulados en una hoja de cálculo de Microsoft Excel (v. 2010), adicionalmente se empleó gráficos descriptivos. Se agruparon los datos en rangos para cada parámetro de calidad de agua y se determinaron los valores mínimos y máximos. Así mismo se aplicaron los estadísticos descriptivos como promedio y desviación estándar.

El balance de nitrógeno fue realizado en una hoja de cálculo de Microsoft Excel (v. 2010), empleando las fórmulas mencionadas anteriormente, los resultados fueron presentados finalmente en una tabla con las formas nitrogenadas presentes en cada sistema.

Para el análisis estadístico se realizó una prueba de normalidad con el test *Kolmogorov-Smirnov* (K-S). Para ello se usó un nivel de significación del 0.05, y cuya hipótesis nula (H_0) fue que la distribución de la variable seleccionada provenía de una distribución normal. Una vez realizada esta prueba se procedió a realizar el análisis multivariado con las variables que presentaron una distribución normal.

El primer paso para el análisis multivariado fue determinar las correlaciones de Pearson ($P \leq 0.05$) entre cada uno de los parámetros de calidad de agua medidos en la etapa experimental. El segundo paso fue analizar la matriz de correlaciones y se determinó que la correlación fue alta para algunas variables. Por ello se realizó el Análisis de Componentes Principales (ACP) para determinar “n” componentes o factores, cuya asociación, permita identificar los distintos procesos biológicos y/o químicos de transformación de los compuestos nitrogenados. Para que un factor o componente sea fácilmente explicable los coeficientes factoriales deben ser próximos a 1 (UOC s.f.)

Todos los análisis estadísticos mencionados anteriormente se realizaron usando el *software SPSS Statistics Base v. 22*.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 VARIABLES FISICO QUIMICAS DE CALIDAD DEL AGUA EN LOS SISTEMAS SRA Y TBF

En la Tabla 7 se presenta los valores promedios, mínimos y máximos, así como la desviación estándar de los parámetros de calidad de agua medidos en cada uno de los sistemas en la fase experimental.

Tabla 6: Valores de los parámetros físicos químicos de calidad del agua de los sistemas SRA y TBF.

Sistemas		SRA				TBF			
Parámetro	Unidades	Min.	Max.	Prom.	D.S.	Min.	Max.	Prom.	D.S.
Temperatura	°C	24.5	31.2	27.2	1.4	25.3	31.1	27.5	1.3
Oxígeno Dis.	mg.L ⁻¹	2.9	6.9	5.3	0.9	4.7	7.5	6.7	0.6
pH	Unid.	6.8	7.5	7.1	0.2	7.0	7.6	7.3	0.2
Conduct. Elect.	mS.cm ⁻¹	3.2	3.7	3.5	0.1	4.1	5.1	4.5	0.3
Alcalinidad	mg.L ⁻¹	56.9	92.1	79.0	10	48.8	97.5	82.9	14.6
SST	mg.L ⁻¹	6	71	22	17.7	152	526	283	95.2
NAT	mg.L ⁻¹	0.7	2.4	1.2	0.4	0.3	4.8	3.2	1.1
N-NO ₂	mg.L ⁻¹	0.1	5.2	1.9	1.4	0.1	5.7	2.0	2.3
N-NO ₃	mg.L ⁻¹	24	74	53	14	45	114	86	19
NH ₃	mg.L ⁻¹	0.005	0.026	0.014	0.006	0.006	0.139	0.062	0.040

FUENTE: Elaboración propia

La temperatura en los SRA se mantuvo en 27.2 °C en promedio, con una fluctuación de 24.5-31.2 °C (Tabla 7). Este rango concuerda con las temperaturas de cultivo del paiche en ambientes naturales y en estanques, y comprendido entre el rango de temperatura óptima para la nitrificación bacteriana. Por otro lado, la temperatura en los tanques con TBF se mantuvo en 27.5 °C en promedio con una fluctuación de 25.3-31.1°C (Tabla 7), valores cercanos a los SRA.

El oxígeno disuelto en los SRA se mantuvo en 5.3 mg.L⁻¹ en promedio, con una fluctuación de 2.9-6.9 mg.L⁻¹ (Tabla 7). Siendo favorable para el cultivo del paiche según Rebaza et. al (1999), sin embargo para el buen funcionamiento de un SRA Greiner y Timmons (1998) mencionan que se debe mantener una concentración mínima de 5 mg.L⁻¹. En los tanques con TBF el oxígeno disuelto se mantuvo en 6.7 mg.L⁻¹ en promedio, con una variación de 4.7-7.5 mg.L⁻¹ (Tabla 7) Estos sistemas requieren de grandes concentraciones de oxígeno debido a la alta tasa de respiración de los microorganismos del biofloc, por ello se colocaron aireadores en cada tanque.

El pH en los tanques con SRA se mantuvo en 7.1 en promedio, con una variación de 6.8-7.5 (Tabla 7). De modo similar, en los tanques con TBF se mantuvo en 7.3, fluctuando entre 7.0-7.6, encontrándose en ambos sistemas valores comprendidos entre el rango recomendado para el cultivo del paiche según Franco (2005). Por otro lado, el pH en los SRA se mantuvo cercano al óptimo para la nitrificación según Gonzales et al. (2010) y por encima del pH que inhibe la nitrificación según Gerardi (2002) y Michael et al. (1995).

La conductividad eléctrica en los tanques con SRA se mantuvo en 3.5 mS.cm⁻¹ en promedio, fluctuando entre 3.2-3.7 mS.cm⁻¹ (Tabla 7). Por otra parte, en los tanques con TBF se mantuvo en 4.5 mS.cm⁻¹, con una variación de 4.1-5.1 mS.cm⁻¹ (Tabla 7). En ambos sistemas la conductividad estuvo por encima de los valores reportados para el cultivo de paiche en jaulas o en tanques de cemento.

La alcalinidad en los tanques con SRA se mantuvo en 79 mg.L⁻¹ en promedio, con una variación de 56.9-92.1 mg.L⁻¹ (Tabla 7). Mientras que en los tanques con TBF se mantuvo en 82.9 mg.L⁻¹, con una fluctuación de 48.8-97.5 mg.L⁻¹ (Tabla 7). Estos rangos concuerdan con el que reportan Franco et al. (2009) en el cultivo de paiche y se mantiene por encima de la concentración recomendada para los SRA según Lawson (1995). Por el

contrario, Hargreaves (2013) recomienda una alcalinidad de 100-150 mg.L⁻¹ para sistemas con TBF.

Los SST en los SRA se mantuvieron en 22 mg.L⁻¹ en promedio, fluctuando entre 6-71 mg.L⁻¹ (Tabla 7). Por el contrario, en los tanques con TBF se mantuvieron en 283 mg.L⁻¹, con una variación de 152-526 mg.L⁻¹ (Tabla 7), debido a la mayor producción de materia orgánica. En los tanques con SRA se recomienda mantener los SST por debajo de 25 mg.L⁻¹ (LeRoy citado por Alatorre, 2007) y como máximo en 80 mg.L⁻¹ (Lawson, 1995). Es posible que la nitrificación en los SRA pudo verse inhibida debido a la acumulación de sólidos suspendidos en los tanques. En cambio, los tanques con TBF funcionan normalmente entre 200 a 500 mg.L⁻¹ (Hargreaves, 2013).

4.2 ANÁLISIS TEMPORAL DE LA TRANSFORMACIÓN DE LOS COMPUESTOS NITROGENADOS INORGÁNICOS

La Figura 5 representa la fluctuación temporal de los compuestos nitrogenados inorgánicos en los tanques con SRA y con TBF durante el tiempo experimental.

4.2.1 Nitrógeno Amoniacal Total

Se observa en la Figura 5 que el NAT en los tanques con SRA se mantuvo en niveles por debajo de 2.5 mg.L⁻¹ de forma general, alcanzando su máximo valor en 2.35 mg.L⁻¹ al inicio del experimento, lo cual es debido a la estabilización de las bacterias nitrificantes en los biofiltros. En promedio el NAT se mantuvo en 1.2 mg.L⁻¹ (Tabla 6) durante el tiempo experimental, nivel cercano al límite recomendado por Timmons et al. (2002) para la mayoría de especies. Sin embargo, el paiche es considerado un pez rústico que puede tolerar altos niveles de nitrógeno amoniacal (hasta 25 mg.L⁻¹) y adaptarse a estas condiciones adversas, que han sido asociadas a su capacidad de respiración aérea (Cavero et al., 2004).

En los tanques con TBF, los niveles de NAT se mantuvieron por debajo de 5 mg.L⁻¹ y en promedio en 3.2 mg.L⁻¹ (Tabla 7) durante la fase experimental. A diferencia de los SRA, en las unidades con TBF la variación de los niveles de NAT fue mayor en el tiempo (Figura 5). Se presentaron valores extremos de concentraciones cercanas a 5 mg.L⁻¹ al inicio de la fase experimental (semana 1). A partir del día 16 las concentraciones de NAT volvieron a

incrementarse, manteniéndose las siguientes semanas entre 3 y 4.5 mg.L⁻¹ (Figura 5), lo cual pudo causar efectos adversos a la salud de los peces según Timmons et al. (2002), debido a la exposición prolongada de niveles por encima de 1.0 mg.L⁻¹ NAT.

El perfil de NAT en los tanques con TBF fue dinámico, y la eliminación de NAT fue baja en comparación con los SRA (Figura 5), situación parecida al experimento conducido por Azim et al. (2008) en donde se aplicaron dos niveles de proteína en el alimento balanceado, manipulando la relación C/N para evaluar la producción de proteína microbiana, los resultados mostraron que los niveles de NAT se mantuvieron altos, debido a la falta de peces que pudieran consumir esa proteína adicional.

4.2.2 Amoníaco o amonio no ionizado

Los niveles de amonio no ionizado (NH₃) en los tanques SRA se mantuvieron en 0.014 mg.L⁻¹ en promedio durante la fase experimental (Tabla 7), siendo tolerable para la mayoría de peces y cercano al límite (0.02 mg.L⁻¹) sugerido por Kubitza (1999) para peces tropicales. Por el contrario, Cavero et al. (2004) mencionan que los juveniles de paiche soportan concentraciones de hasta 2 mg.L⁻¹ de NH₃ a 26.9±0.9 °C sin producirse mortalidad.

En los tanques con TBF se registraron niveles de amoniaco de 0.06 mg.L⁻¹ en promedio (Tabla 7), y en general las concentraciones estuvieron por encima de 0.02 mg.L⁻¹ (Figura 5) a diferencia de los SRA donde los niveles se mantuvieron por debajo del límite recomendado. La exposición continua a concentraciones de amonio no ionizado por encima de 0.02 mg.L⁻¹ puede ser nociva para los peces tropicales, ocasionando daño renal, en branquias, reducción del crecimiento y de la capacidad de transportar oxígeno a la sangre (Kubitza, 1999; Durborow et al., 1997).

4.2.3 Nitritos

Los niveles de nitritos en los tanques con SRA se mantuvieron entre 0.15-5.17 mg.L⁻¹ (Tabla 7) durante la fase experimental. Alcanzando su máximo valor en el día 5 (Figura 5), correspondiente a un periodo donde hay mayor predominio de bacterias *Nitrosomonas*, llamado también “periodo crítico” (Prieto, 2001). Esta elevación de nitritos al inicio de la fase experimental, indica la actividad bacteriana del proceso de nitrificación. Los siguientes días los niveles empezaron a disminuir, sin embargo a partir del día 21, los

valores empezaron a elevarse nuevamente, manteniéndose entre 2-3.5 mg.L⁻¹ hasta el día 44 (Figura 5). Bautista y Ruiz-Velazco (2011) mencionan que niveles de nitritos superiores a 0.75 mg.L⁻¹ pueden provocar estrés en los peces.

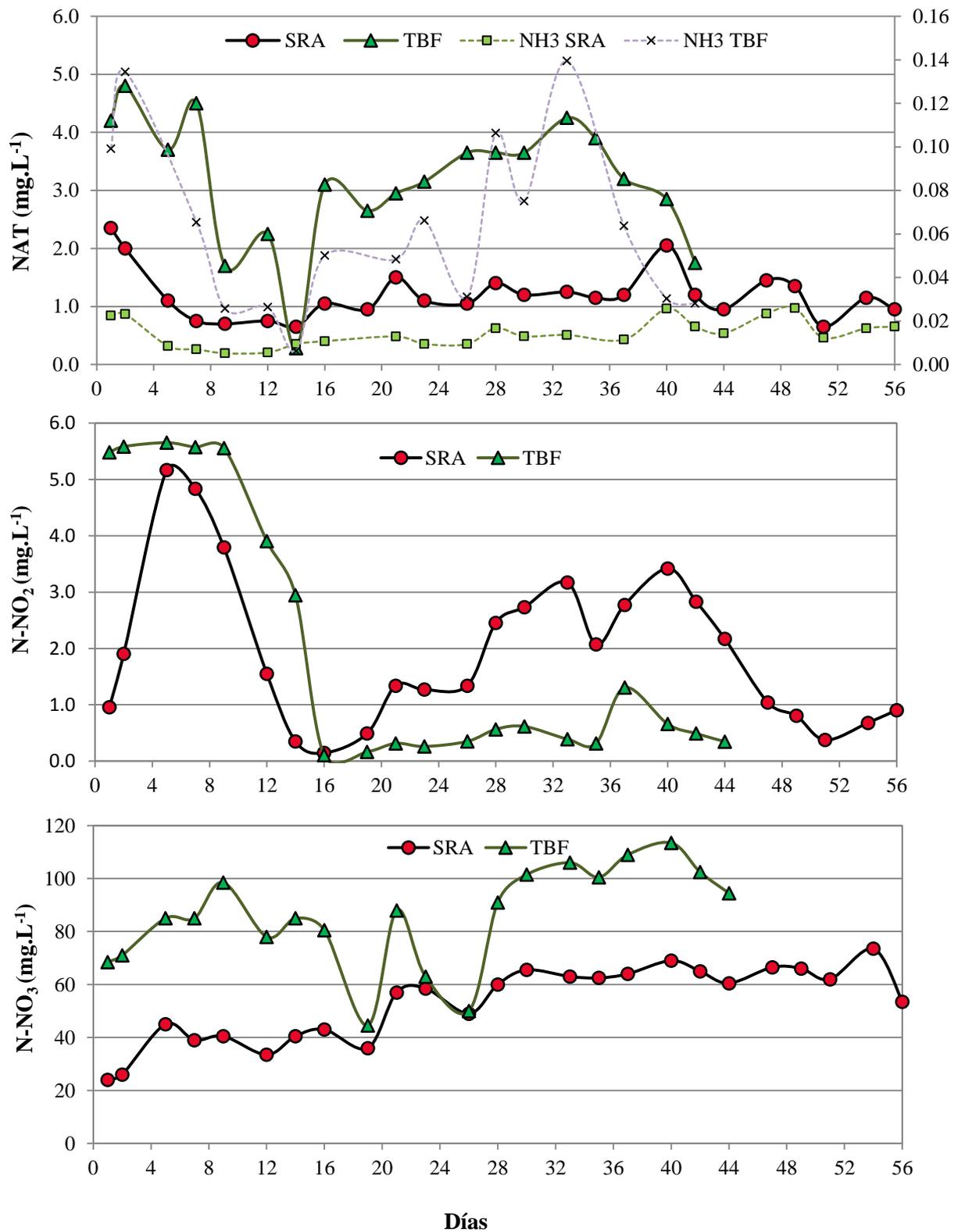


Figura 5: Comportamiento de los niveles de NAT, nitritos y nitratos en los sistemas SRA y con TBF.

FUENTE: Elaboración propia

Por otro lado, Garrido et al. (1997) mencionan que las acumulaciones de nitrito son el primer indicador de bajo suministro de oxígeno a (o en) un biofilm. Por ello, como se observa en la Figura 6, el día 39 se adicionó una piedra difusora en el tanque de cultivo de peces, el cual incrementó la turbulencia, y por ende el oxígeno en el agua a concentraciones por encima de 5 mg.L^{-1} , que produjo el descenso de los niveles de nitritos (de 3.4 a 0.4 mg.L^{-1}) en los días posteriores (del día 40 al 56) hasta niveles seguros para el cultivo de peces y para la nitrificación (Figura 6).

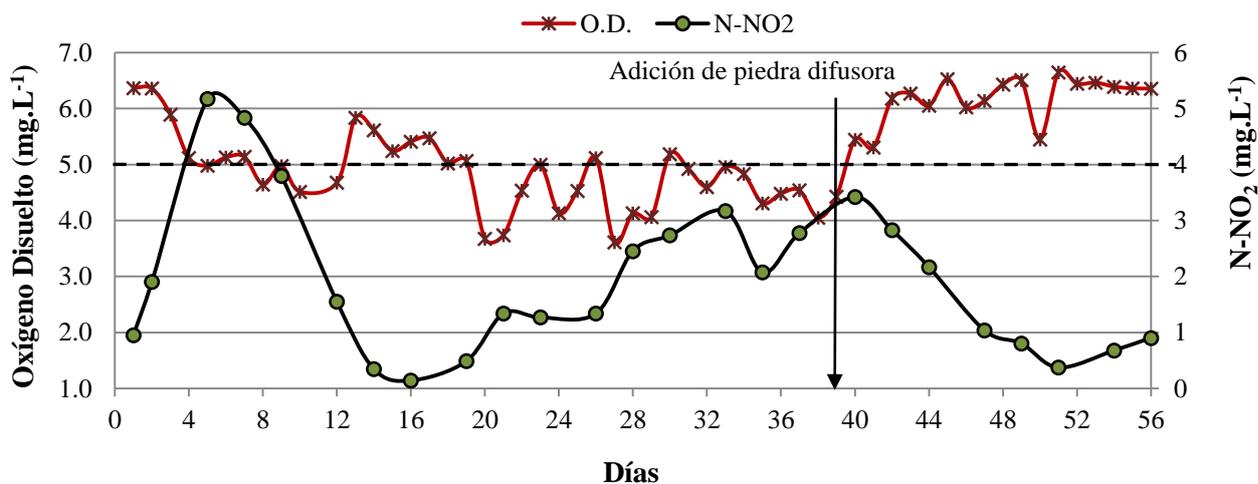


Figura 6: Variación de los niveles de nitritos con respecto a la concentración de OD en el agua de los tanques con SRA.

FUENTE: Elaboración propia

En los tanques con TBF los niveles de nitritos se mantuvieron en 5.6 mg.L^{-1} en promedio durante los primeros 10 días del experimento, luego los niveles disminuyeron de 5.6 a 0.1 mg.L^{-1} (día 16) hasta mantenerse los días siguientes (del día 16 al 44) en 0.45 mg.L^{-1} en promedio hasta el final del experimento. Siendo estos valores inferiores al límite máximo de nitritos (0.5 mg.L^{-1}) en el agua citado por Kubitzka (2003) para el cultivo de peces tropicales.

El control de los niveles de nitritos en los tanques con TBF fue más eficaz que los SRA. Así mismo, en los tanques con TBF fue menor el tiempo de exposición a concentraciones de nitritos por encima $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ durante el tiempo experimental (Figura 5), esto fue debido a los óptimos parámetros de calidad de agua para que la nitrificación se desarrolle, lo cual se refleja óptimos parámetros de calidad de agua para que la nitrificación se desarrolle, lo cual se refleja en la mayor acumulación de los niveles de nitratos (de 68.5 a

91 mg.L⁻¹) del día 1 al día 28 (Figura 5) y en el constante consumo de alcalinidad a lo largo del experimento (Figura 7). Según Ebeling et al. (2006) las bacterias autótrofas consumen 7.05 g de alcalinidad/g N, mientras que las bacterias heterótrofas 3.57 g de alcalinidad/g N. Por ello, se puede presumir que en los tanques con TBF también hubo remoción de NAT mediante bacterias nitrificantes, sin embargo, esta no fue eficiente para eliminar los altos niveles de NAT en el agua, pero si mantuvo los niveles de nitritos en un rango seguro para el cultivo de peces durante la mayor parte del experimento.

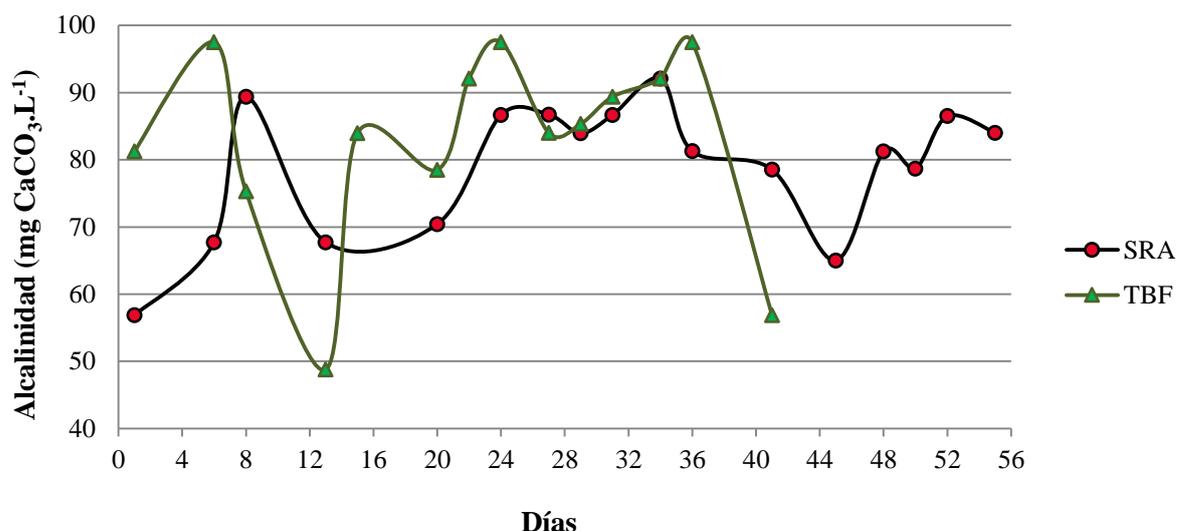


Figura 7: Variación de la alcalinidad en los tanques con SRA y TBF.

FUENTE: Elaboración propia

4.2.4 Nitratos

Los nitratos en los tanques con SRA fluctuaron entre 24-74 mg.L⁻¹ durante el experimento, mientras que en los sistemas con TBF se mantuvieron entre 45-114 mg.L⁻¹ (Tabla 7), debido al mayor tiempo de residencia del agua de cultivo y a los bajos recambios en comparación con los SRA.

Por otro lado, en los tanques con SRA el incremento de nitratos del día 28 al día 50 fue lento (Figura 5), periodo en el cual los niveles de nitritos se elevaron, dicho incremento fue debido a la baja concentración de oxígeno disuelto para completar la nitrificación (segunda oxidación de nitritos a nitratos). Por ello, la conversión a nitratos fue muy baja en este periodo, mostrando una tendencia casi constante en el tiempo (Figura 5).

En los tanques con TBF los niveles de nitratos se acumularon de 45 a 114 mg.L⁻¹ (Figura 5) durante el tiempo experimental, debido a la nitrificación bacteriana y al nitrato incorporado con el alimento. Por otra parte, se observa que a partir del día 30 el incremento de los niveles de nitratos es más lento, variando sólo de 102 a 114 mg.L⁻¹ (Figura 5). Mientras que los SST se elevan exponencialmente de 280 a 526 mg.L⁻¹, del día 30 al 40 (Figura 8), seguido a ello los niveles de NAT disminuyen abruptamente hasta 1.75 mg.L⁻¹ (día 42) en el último periodo experimental (Figura 8). Por las condiciones mencionadas, se podría deducir que en este periodo se desarrolló la inmovilización del ión amonio mediante las bacterias heterotróficas del biofloc y que la nitrificación fue inhibida por la dominancia de las bacterias floculantes. Ebeling et al. (2006) sostienen que en los sistemas con TBF ambas formas de control del nitrógeno inorgánico, mediante bacterias autótrofas y heterótroficas, pueden estar activas en algún grado y competir por el mismo sustrato (amonio), posiblemente resultando en la dominancia de un grupo sobre otro, así mismo otros autores sostienen que la nitrificación autótrofa es común en los sistemas con TBF (Avnimelech, 2012; Azim y Little, 2008; Luo et al., 2013) y es a través del aumento de la relación C/N que se promueve la asimilación de NAT e inhibe la nitrificación autótrofa en los sistemas con TBF (Asaduzzaman et al., 2008; Avnimelech, 1999). Es posible que las dos formas de control del NAT estuvieran presentes, siendo predominante la nitrificación durante el primer mes (del día 1 al 30) y los siguientes días (del día 31 al 44) haya sido más fuerte la inmovilización heterotrófica.

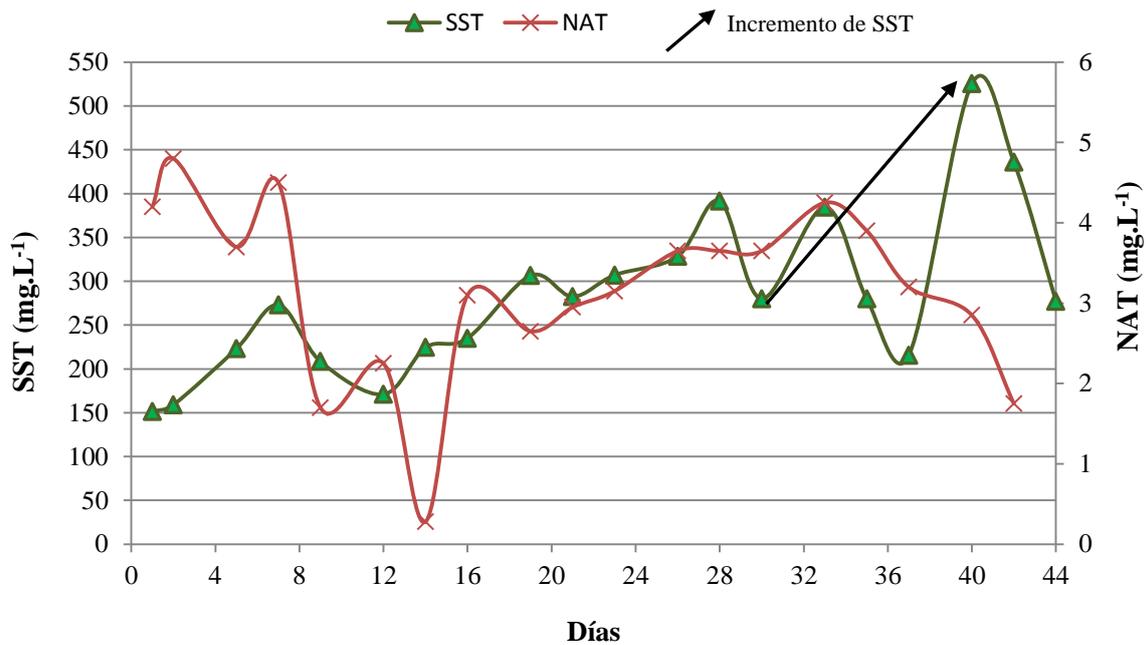


Figura 8: Efecto del control heterotrófico reflejado en el aumento de los SST sobre los niveles de NAT en los tanques con TBF.

FUENTE: Elaboración propia

Sin embargo, a pesar de que hubo una alta producción de sólidos sedimentables en los tanques con TBF (de 150 a 526 mg.L⁻¹ SST) durante el experimento, que indicaría el incremento en la concentración de Biofloc (Nootong et al., 2011), ocurrió una baja inmovilización de amonio por los organismos heterotróficos durante el primer mes y la nitrificación no fue suficiente para controlar los niveles de NAT en los tanques (del día 1 al 33).

La adición de melaza con una relación C/N de 15:1, considerada una buena relación para el óptimo crecimiento bacteriano heterotrófico (Avnimelech, 1999; Hargreaves, 2006), permitió el rápido crecimiento de los bioflocs, sin embargo, la remoción de NAT mediante la vía heterotrófica no fue eficiente sino hasta el último periodo experimental (del día 33 al 42). Por el contrario, la acumulación progresiva de sólidos sedimentables (SS) dificultó el manejo del sistema, por ello se tuvo que hacer extracciones periódicas para mantenerlos en un rango que permita la funcionalidad del sistema y el control de NAT (Hargreaves, 2013). Tidwell (2012) menciona que los organismos que asimilan nitrógeno amoniacal en sus estructuras celulares deben, en algún momento, ser retirados del sistema o el nitrógeno regresará al agua y representará un riesgo para los animales de cultivo. La remoción de

sólidos se realizó cuando los niveles de SS se elevaban repentinamente, lo cual se observa en la Figura 9 en los incrementos de sólidos; y la extracción se muestra con los descensos a lo largo de la fase experimental (Figura 9). Así mismo, el manejo de la concentración de bioflocs puede reducir la edad de la comunidad microbiana, promoviendo una más joven y nutritiva variedad de microorganismos (Turker et al. citado por Tidwell, 2012).

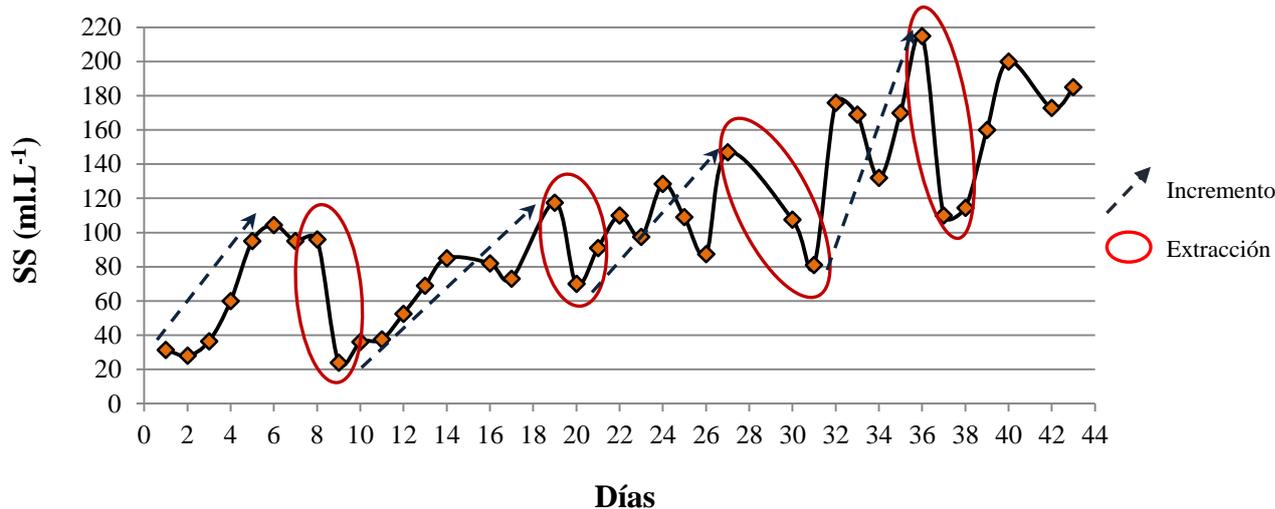


Figura 9: Incremento y extracción de SS en los tanques con TBF.

FUENTE: Elaboración propia

En los tanques con TBF la biomasa de bacterias heterótrofas no fue consumida aparentemente por los peces, lo cual se observa en la acumulación de bioflocs, cuantificado como nitrógeno orgánico del volumen de agua total de los tanques (Figura 10). La utilización de la proteína de los flóculos bacterianos depende de la capacidad del pez para aprovecharla y digerirla (Avnimelech, 1999) y del hábito alimenticio de la especie cultivada.

La concentración de SS, sumado al alimento no consumido provocó la acumulación de lodos en el fondo del tanque, con posibles zonas anóxicas alejadas de los aireadores, la cual pudo ser causante de una vía para la pérdida de nitrógeno en el agua. La presencia de lodos en el fondo del tanque indicó la presencia de flóculos viejos que sedimentaron, estos pudieron causar también la elevación de los niveles de NAT debido a los procesos de descomposición. Arellano (2005) menciona que en sistemas de lodos activados la

distribución de las edades de las células es tal que no todas están en fase de crecimiento exponencial, por ello se debe considerar el tiempo de retención celular o edad celular para el adecuado desarrollo de la biodegradación y estabilización de lodos. En este experimento la extracción de sólidos fue realizada de forma manual cada 8 a 11 días, como se muestra en la Figura 9, para no causar una situación adicional de estrés en los peces y debido a que los sistemas bioflocs se mantuvieron en el margen de SST recomendado para su funcionalidad.

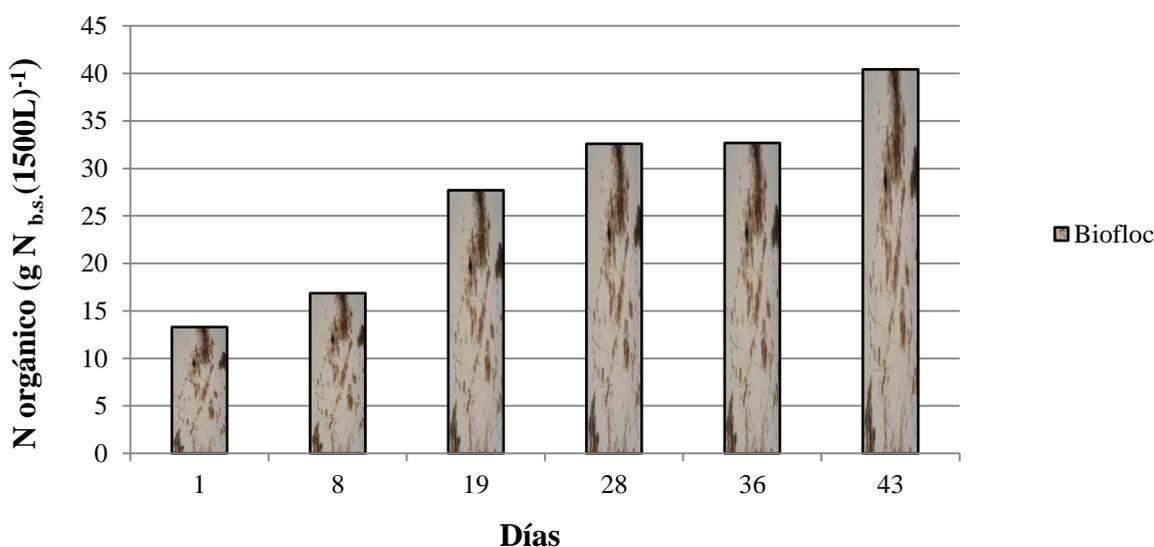


Figura 10: Nitrógeno orgánico en base seca acumulado en los bioflocs de los tanques con TBF de 1500L.

FUENTE: Elaboración propia

Durante el experimento, se observó la excesiva presencia de bacterias filamentosas (Figura 11) en los tanques con TBF, al inicio y al final de la fase experimental, por ello se detuvo la adición de melaza (fuente de carbono) como una estrategia para reducir las bacterias filamentosas que dificultaban la medición de los SS en los conos Imhoff y que produjo un incremento exponencial en la producción de SST (del día 30 al 40) (Figura 8). Reyes (2009) menciona que las bacterias filamentosas atrapan a las bacterias formadores de flóculos impidiendo su sedimentación, reporta que al crear una situación de inanición (detener la adición de sustrato) durante un periodo suficiente, se eliminan las bacterias filamentosas y además se regenera la capacidad de almacenamiento de las bacterias

floculantes. Así mismo, otra posible causa de la aparición de microorganismos filamentosos es debido a la edad del fango, ya que estos microorganismos se ven favorecidos por altos tiempos de retención celular (Reyes, 2009). Lo cual posiblemente ocurrió en estos sistemas bioflocs debido al bajo número de recambios y retiro de sólidos con mayor tiempo de residencia en los tanques que no permitieron la renovación de flocs con mayor capacidad para inmovilizar el amonio en sus células.



Figura 11: Presencia de bacterias filamentosas causantes del *bulking* filamentoso en los tanques con TBF.

FUENTE: Elaboración propia

Por otro lado, se observó que cuando se dejó de adicionar melaza al inicio (del día 6 al 11) y al final (del día 36 al 43) del experimento los niveles de NAT disminuían progresivamente a diferencia de cuando se realizó adiciones diarias en pequeñas dosis (Figura 12). Avnimelech citado por Ochieng et al. (2014) mencionan que adiciones continuas de fuentes de carbono como melaza pueden provocar elevadas concentraciones de NAT en los sistemas, mientras que Crab (2010) y Phulia et al. (2012) sugieren adicionar grandes dosis a intervalos regulares. Por lo que se podría inferir que la frecuencia de adición de melaza también tuvo influencia sobre los niveles de NAT en los tanques con TBF.

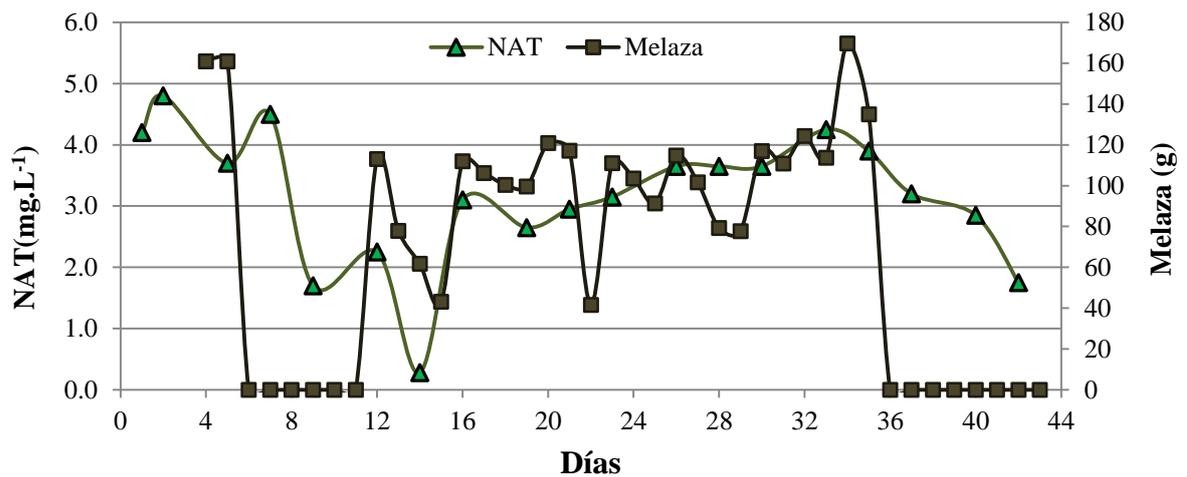


Figura 12: Relación de la periodicidad de adición de melaza con la disminución de los niveles de NAT en los TBF.

FUENTE: Elaboración propia

Además del *Bulking* filamentoso, se observó también la formación de espuma de color marrón rojizo (Figura 13), la cual según Reyes (2009) se debe a los organismos filamentosos que producen una espesa espuma coloreada (en colores del blanco al marrón), llamada *Foaming*.

Figura 13: Presencia de Foaming causante de espuma de coloración marrón rojizo en los TBF.



FUENTE: Elaboración propia

Por otra parte, analizando el cambio en las concentraciones de iones presentes en el agua en los tanques con TBF, se observa el incremento en las concentraciones de Ca^{2+} (Tabla 8). Luo et al. (2013) y Tezuka (1969) manifiestan que, al aumentar la concentración de cationes divalentes, particularmente calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}), se observan una mejora en las propiedades de sedimentación y un aumento en la fuerza de floculación. El calcio juega un papel importante en la formación y el tamaño final de los flóculos mediante la construcción de puentes iónicos de Ca^{2+} (Nguyen et al., 2007). Las concentraciones de estos cationes necesarios para la buena biofloculación varían desde 0.72 a 2.0 meq.L⁻¹ cada uno (14.4 a 40.1 mg.L⁻¹ de Ca^{2+} y de 8.8 a 24.3 mg.L⁻¹ de Mg^{2+}) (Higgins y Novak, 1997). El aumento de la concentración de este catión divalente (Ca^{2+}) (Tabla 8) pudo haber ayudado a la formación de flóculos en los sistemas con TBF, lo cual se evidenció más en las últimas semanas del experimento.

Tabla 7: Variación temporal de las concentraciones de iones en los tanques con TBF

Concentración del ión (mg.L ⁻¹)	Inicio	Final
Ca^{2+}	385.0	468.0
Mg^{2+}	88.5	86.9
K^+	91.1	164.4
Na^+	655.0	620.0
NO_3	174.8	175.8
CO_3^{2-}	0.0	0.0
HCO_3^-	194.6	117.1
SO_4^{2-}	270.2	1157.0
Cl^-	1615.3	1162.6

FUENTE: Elaboración propia

4.3 ELIMINACIÓN DE NITRÓGENO INORGÁNICO EN LOS TANQUES CON SRA

El NAT en promedio en los biofiltros de los SRA (con porciones de tubos corrugados de PVC de medio filtrante) en este experimento fue de 0.7 mg.L⁻¹ (Tabla 9), valor por debajo al reportado por Ridha y Cruz (2001) en un SRA (1.9 mg.L⁻¹ de NAT), con sistema airlift para el retorno del agua y con biofiltros que contenían como medios de filtro, fichas de polipropileno (PP) y bloques de polietileno (PE), empleado en el cultivo de juveniles de tilapia *Oreochromis niloticus* durante 172 días. Por otro lado, la concentración promedio de amoníaco en este experimento fue de 0.01 mg.L⁻¹ (Tabla 9), menor a la concentración de amoníaco (0.02 mg.L⁻¹) en los dos medios de filtro del experimento de Ridha y Cruz

(2001). Sin embargo, la concentración promedio de nitritos en este experimento fue de 1.98 mg.L⁻¹ (Tabla 9) mayor a la reportada por Ridha y Cruz (2001) del biofiltro con medios de filtro de chips y bloques de PE (0.59 y 0.72 mg.L⁻¹ respectivamente). Tal situación indicaría posiblemente que las porciones de tubos corrugados de PVC usados como medio filtrante en esta investigación fueron menos eficientes que los chips y bloques de PE en albergar a las bacterias nitrificantes, que permiten mantener las concentraciones de NAT y nitritos en niveles seguros para el cultivo de peces. Sin embargo, las altas concentraciones de nitritos no solo de debieron a este motivo sino debido a los bajos niveles de oxígeno disuelto en el agua que ingresó a los biofiltros (Figura 6) y que perjudicó el proceso de nitrificación. Tal situación sugeriría escoger un mejor medio filtrante con mayor área superficial para las bacterias nitrificantes.

Tabla 8: Valores de los compuestos nitrogenados del agua a la salida del biofiltro de los SRA.

Concentración (mg. L ⁻¹)	NAT	NH ₃	N-NO ₂	N-NO ₃
Min	0.3	0.005	0.1	22
Max	1.1	0.03	5.1	69
Promedio	0.7	0.01	2.0	50.1
D.S.	0.22	0.01	1.39	12.28

FUENTE: Elaboración propia

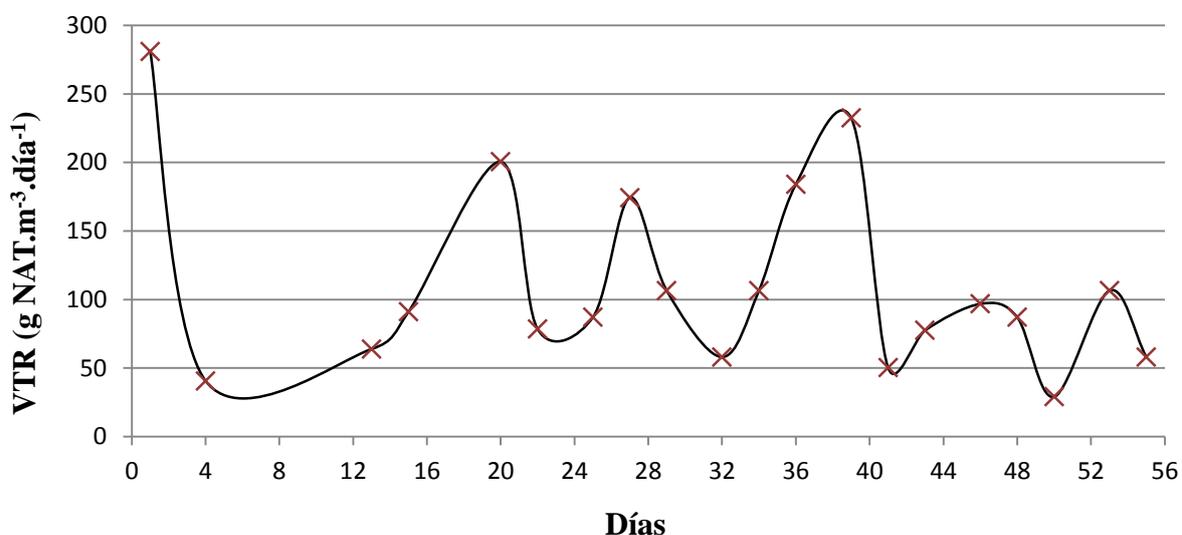
Durante la fase experimental se determinó el porcentaje de eliminación de NAT (VR) en los biofiltros y se obtuvo 42.7% de remoción en promedio (rango de 17.4-79.2%) (Tabla 10). Kir (2009) reportó en un biofiltro sumergido (con medio filtrante de biobolas), con agua a diferentes temperaturas de cultivo (14,18, 22 y 26°C), porcentajes de eliminación de 14.91-26.8% en un SRA mantenido con camarón tigre verde *Penaeus semisulcatus*. Por otra parte, Al-Hafedh et al. (2003) reportaron porcentajes de eliminación de NAT de 21.02-25.49% en tres biofiltros sumergidos que contenían diferentes medios filtrantes (rollos de plásticos, porciones de tubos de PVC y esponjas de limpieza) acoplados a dos filtros mecánicos (de arena y de cuentas de plástico) en un SRA con tanques para el cultivo intensivo de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*. Por otro lado, García-Pulido et al. (2011) reportaron un porcentaje de eliminación de NAT de 57.14% en un biofiltro percolador y de 66.67% para el filtro de arena que estuvo acoplado a las unidades de cultivo para trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*. Valores por encima a los reportados en

el presente estudio, posiblemente por las mejores condiciones para el desarrollo de la nitrificación en el biofiltro percolador, ya que presentaron un mayor volumen del lecho filtrante, mayor caudal de ingreso al biofiltro y presencia de difusores de burbuja que permitieron mantener los niveles de OD por encima del valor crítico para el óptimo desarrollo de la nitrificación. Sin embargo, los biofiltros en este estudio mostraron un alto grado de remoción de NAT en comparación a los biofiltros sumergidos usados por Kir (2009) y Al-Hafedh et al. (2003), a pesar de que estos poseían un mayor volumen de lecho filtrante y filtros mecánicos más sofisticados.

La tasa volumétrica de conversión de NAT promedio (VTR) del presente estudio fue de $110.5 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ (rango de $29.1 - 280.9 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$) para el biofiltro sumergido con porciones de tubos corrugados de PVC de medio filtrante (Tabla 10). Pfeiffer y Malone (2006) reportaron una VTR de 117.4 y $127 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ en un biofiltro de gránulos sintéticos y un filtro fluidizado de arena. Por otro lado, Kir y Timur (2009) reportaron VTR de $52.7-92.5 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ en un biofiltro sumergido con medio filtrante de zeolita, donde se analizó el efecto del intervalo de tiempo (6, 12, 18, 24 horas) después del lavado en contracorriente sobre el rendimiento de la nitrificación medido como VTR, ellos comprobaron que el lavado en contracorriente es importante para la continuidad en el rendimiento de la nitrificación y que debería realizarse una vez al día. García-Pulido et al. (2011) reportaron VTR en promedio de 90.64 ± 52.23 y $25.05 \pm 22.84 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ para un filtro de arena y un filtro percolador, respectivamente. Westerman et al. (1996) informaron de VTR para una combinación de biofiltros, de cuentas flotantes y un biofiltro rotatorio, de $120-160 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{día}^{-1}$ y $101 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{día}^{-1}$ respectivamente. Por otra parte, Harwanto et al. (2011) reportaron VTR en tres tipos de medios filtrantes, siendo de $39.3-322.7 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ en el filtro de arena cuentas flotantes, de $35-310.5 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ en el filtro de micropartículas de poliestireno y de $32.1-288.1 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ en el filtro de gránulos tipo *Kaldnes* bajo tasas de carga de NAT de 5 a $50 \text{ g.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$. Las VTR alcanzadas en este estudio estuvieron cercanas a los estudios antes mencionados (Westerman et al., 1996; Pfeiffer y Malone, 2006), en algunos casos por encima de los VTR del estudio de García-Pulido et al. (2011) y Kir y Timur (2009), y por debajo del estudio de Westerman et al. (1996) en el performance del biofiltro de cuentas flotantes y de Malone y Beecher (2000) sostienen que la mayoría de biofiltros usados en el cultivo de peces en fase de crecimiento operan con VTR entre $140-350 \text{ g NAT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ en promedio y con intervalos de lavados de 1-2 días. Siendo el VTR promedio en este estudio

cercano al mencionado por Malone y Beecher (2000) y algunos días alcanzando VTR promedio entre 200 a 280 g NAT. m⁻³.día⁻¹ (día 2, 21 y 40), como se muestra en la Figura 14. Malone et al. (1993) recomiendan frecuencias de lavado de por lo menos cada 2 a 3 días, para asegurar la continuidad en las tasas de eliminación de nitrógeno amoniacal. Por ello, es probable que si el lavado en los biofiltros hubiese sido más frecuente se habría alcanzado mayores tasas de eliminación volumétrica del NAT.

Figura 14: Valores de VTR calculados en los biofiltros de los SRA.



FUENTE: Elaboración propia

La tasa volumétrica de conversión de nitrito (VNR) del presente estudio fue de 104 g NO₂.m⁻³.día⁻¹ en promedio (rango de 1.9-249.9 gNO₂-N.m⁻³.día⁻¹) (Tabla 10). Summerfelt (2006) reportó VNR de 169±5 gNO₂-N.m⁻³.día⁻¹ y 157±9 gNO₂-N.m⁻³.día⁻¹ para un biofiltro fluidizado de arena (BFA) operado con un mecanismo con y sin extracción del biofilm, donde evaluaban un mecanismo para separar las biopelículas espesantes en un BFA. Por otro lado, Guerdat et al. (2010) reportaron VNR de tres biofiltros disponibles comercialmente, siendo de lecho fluidizado de arena, de lecho móvil con poco espacio y de lecho flotante con VNR de 1295, 353 y 352 gNO₂-N.m⁻³.día⁻¹ respectivamente. Al comparar la tasa de remoción volumétrica de nitritos de los estudios antes mencionados con el biofiltro de lecho sumergido del presente estudio, se puede observar que la remoción de nitritos estuvo por debajo de los otros biofiltros y que sólo se alcanzó una VNR favorable o cercana a las reportadas el día 21 de la fase experimental (250 gNO₂-N.m⁻³.día⁻¹) y que la remoción no fue tan eficiente como un biofiltro de escala comercial debido a

que gran parte de la fase experimental los niveles de oxígeno disuelto en el agua se mantuvieron por debajo del límite que recomiendan para la óptima nitrificación.

Tabla 9: Eficiencia de eliminación de los compuestos nitrogenados tóxicos (NAT y nitritos) en los SRA.

	VR (%)	VTR (g NAT.m ⁻³ .dia ⁻¹)	VNR (g NO ₂ -N.m ⁻³ .dia ⁻¹)
Min	17.4	29.1	1.9
Max	79.2	280.9	249.9
Promedio	42.7	110.5	104.0
D.S.	18.2	68.1	63.4

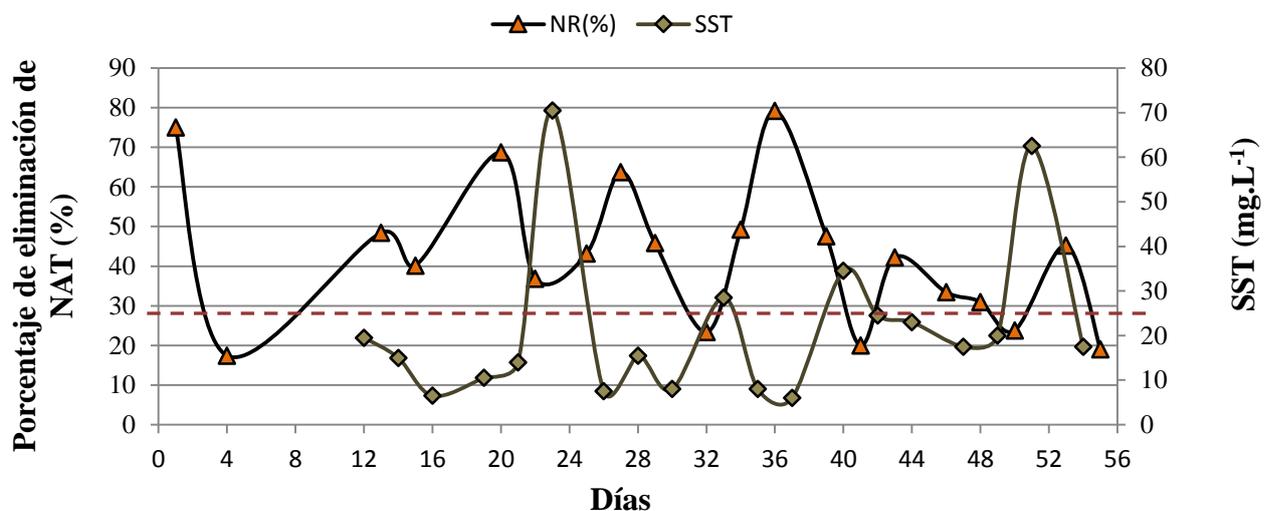
FUENTE: Elaboración propia

Así mismo, se observó que cuando las concentraciones de SST en el agua de los tanques con SRA incrementaron por encima de 25 mg.L⁻¹, el porcentaje de eliminación de NAT (VR) disminuyó en un 30% aproximadamente. La eliminación fue más eficiente cuando los SST se mantuvieron por debajo de 20 mg.L⁻¹ (Figura 15). LeRoy citado por Alatorre (2007) recomienda niveles de sólidos suspendidos totales por debajo de 25 mg.L⁻¹ para sistemas acuícolas, valor que también fue el límite establecido en los SRA de este experimento. Chen et al. citado por García-Pulido et al. (2011) mencionan que, al hidrolizarse el nitrógeno orgánico contenido en los sólidos, liberan aproximadamente el 80% del total del amonio contenido en el efluente. Por otro lado, los compuestos orgánicos particulados proporcionan sustratos para el crecimiento de las bacterias heterótrofas que compiten con las bacterias nitrificantes por el oxígeno disuelto y espacio para el crecimiento (Ohashi et al., 1995; Van Benthum et al., 1997). Así mismo, Chen et al. (2006) mencionan que, con el incremento de la materia orgánica en los SRA, las bacterias heterótrofas de rápido crecimiento que utilizan carbono orgánico como fuente de energía son mejores competidores que las bacterias nitrificantes de lento crecimiento, lo que resulta finalmente en una disminución en la tasa de nitrificación. Por otro lado, Bovendeur et al. (1990) y Michaud et al. (2006) observaron una significativa reducción de la tasa de nitrificación por la disminución de la transferencia de oxígeno y difusión de amonio en la capa del biofilm debido al aumento de la velocidad de carga orgánica y con ello la relación C/N. Nootong et al. (2012) mencionan que el rendimiento de los biofiltros nitrificantes se vio afectado en gran medida cuando las unidades de separación de sólidos fueron detenidas (SST > 35 mg/L, NAT y NO₂ > 1 mg.L⁻¹). Por todo lo mencionado, se presume que los bajos porcentajes de eliminación de NAT (VR) se debieron al ineficaz manejo de los SS, debido a que los filtros mecánicos no lograron retener toda la materia

orgánica particulada proveniente de las heces y el alimento no consumido, ya que se colmataban de sólidos, por ello el cambio de filtros se realizó diariamente.

Estos bajos porcentajes de remoción en los SRA indican que la capacidad de nitrificación fue inhibida parcialmente por factores de calidad del agua, como los altos niveles de SST ($> 25 \text{ mg.L}^{-1}$) durante varios días de la fase experimental, así como las bajas concentraciones de OD en los biofiltros, debido a que el caudal de ingreso fue muy bajo y el tiempo de residencia alto, lo que conllevó a la formación de un biofilm bacteriano heterotrófico alrededor de las paredes de los tanques, que pudieron competir con las bacterias nitrificantes por el oxígeno y el sustrato. Todos estos factores sugieren intensificar la aireación en los tanques de cultivo e incrementar el caudal de los biofiltros.

Figura 15: Relación del porcentaje de eliminación de NAT de los biofiltros con los niveles de SST en el agua de cultivo en los SRA.



FUENTE: Elaboración propia.

4.4 PRINCIPALES VÍAS DE ELIMINACIÓN DE NITRÓGENO INORGÁNICO EN LOS SISTEMAS

Para identificar las principales vías de eliminación de nitrógeno inorgánico se realizó un balance porcentual de los componentes nitrogenados en cada sistema (Tabla 12).

4.4.1 Estimación del balance de nitrógeno

Se realizó un balance de nitrógeno en ambos sistemas, el ingreso de nitrógeno en el alimento fue cuantificado en gramos y representó el 100% del nitrógeno total que ingreso a los sistemas. La Tabla 11 muestra la distribución del nitrógeno medida en gramos y disponible en distintas formas en los tanques de cultivo al final del experimento, ya sea como nitrógeno inorgánico disuelto en el agua, nitrógeno incorporado en los peces, nitrógeno orgánico disuelto, particulado y el nitrógeno no contabilizado.

Tabla 10: Estimación del balance de nitrógeno (g) en los tanques (T) de cultivo de juveniles de paiche *Arapaima gigas* en los sistemas cerrados de recirculación (SRA) y con tecnología de bioflocs (TBF).

Sistemas	N total del Alimento (g)	N inorgánico disuelto (g)	N incorporado en peces (g)	N orgánico disuelto (g)	N orgánico particulado (g)	N no contabilizado (g)
SRA	<i>Nitrógeno en gramos en base seca (g)</i>					
TA1	279.9	130.9	116.4	2.1	*	30.5
TA2	298.9	149.8	122.3	2.6	*	24.2
Promedio	289.4	140.4	119.4	2.4	*	27.3
TBF	<i>Nitrógeno en gramos en base seca (g)</i>					
TB1	319.1	131.7	91.2	*	37.3	58.9
TB2	294.4	96.1	81.8	*	29.4	87.1
Promedio	306.8	113.9	86.5	*	33.3	73.0

* Esta forma de nitrógeno estuvo presente en los tanques, pero no fue determinada.

FUENTE: Elaboración propia

En la Tabla 11 se muestra la cantidad de nitrógeno promedio que ingresó como alimento balanceado durante el periodo experimental en ambos sistemas de cultivo. En los tanques con SRA se brindó en total 289.4 g de nitrógeno, mientras que en los sistemas biofloc se brindó 306.8 g. Por otro lado, el nitrógeno inorgánico disuelto, que incluye a NAT, N-NO₂ y N-NO₃ medidos en el agua fue de 140.4 g en los sistemas de recirculación, mientras que en los tanques con TBF fue 113.9 g en promedio. En cuanto al nitrógeno incorporado en la biomasa de peces durante el experimento fue de 119.4 g en los SRA, a diferencia de los tanques con TBF que fue sólo de 86.5 g en promedio. Además, en los SRA se determinó el

nitrógeno orgánico disuelto en promedio, que fue de 2.4 g y en los tanques con TBF se determinó el nitrógeno orgánico particulado, el cual incluye a las partículas del biofloc y fue de 33.3 g. Finalmente la cantidad de nitrógeno que no fue determinado se menciona como un nitrógeno no contabilizado, el cual fue de 27.3 g en los tanques con SRA y de 73 g en los sistemas con bioflocs.

En la Tabla 12 se muestra el balance del nitrógeno expresado en porcentaje de las diferentes formas de nitrógeno disponible en los sistemas de cultivo de paiches.

Tabla 11: Estimación del balance de nitrógeno (%) en los tanques (T) de cultivo de juveniles de paiche *Arapaima gigas* en los sistemas cerrados de recirculación (SRA) y con tecnología de bioflocs (TBF).

Sistemas	N total del Alimento (%)	N inorgánico disuelto (%)	N incorporado en peces (%)	N orgánico disuelto (%)	N orgánico particulado (%)	N no contabilizado (%)
SRA	<i>Nitrógeno en porcentaje (%)</i>					
TA1	100.0	46.8	41.6	0.8	*	10.9
TA2	100.0	50.1	40.9	0.9	*	8.1
Promedio	100.0	48.4	41.2	0.8	*	9.5
TBF	<i>Nitrógeno en porcentaje (%)</i>					
TB1	100.0	41.3	28.6	*	11.7	18.5
TB2	100.0	32.6	27.8	*	10.0	29.6
Promedio	100.0	37.0	28.2	*	10.8	24.0

* Esta forma de nitrógeno estuvo presente en los tanques, pero no fue determinada.

FUENTE: Elaboración propia

a. Nitrógeno inorgánico disuelto

Se observa en la Tabla 12 que el nitrógeno inorgánico disuelto en los sistemas de recirculación representó el 48.4% en promedio, mientras que en los sistemas con tecnología de bioflocs fue de 37%. Este alto porcentaje de nitrógeno inorgánico disuelto en los SRA fue debido a los compuestos nitrogenados del proceso de nitrificación, mientras que en los sistemas con TBF fue menor debido a que además de la nitrificación se desarrolló la asimilación heterotrófica por medio de bacterias que incorporaron el NAT a su biomasa microbiana y que fue cuantificado como nitrógeno orgánico particulado.

b. Nitrógeno incorporado en peces

Por otra parte, el porcentaje de nitrógeno incorporado en la biomasa de peces en los tanques con SRA fue de 41.2% en promedio (Tabla 12). Valor similar al porcentaje de nitrógeno total incorporado en la biomasa (40 – 43%) reportado por Casillas-Hernández et al. (2012) en el cultivo intensivo de tilapia en un SRA en un tiempo similar al presente estudio. Por otro lado, Nootong et al. (2013) encontraron que sólo el 39.4% del nitrógeno total fue incorporado en la biomasa de tilapias cultivadas en un SRA por 98 días. En este estudio el porcentaje de nitrógeno incorporado en la biomasa de paiches en los sistemas de recirculación fue superior al determinado por Nootong et al. (2013).

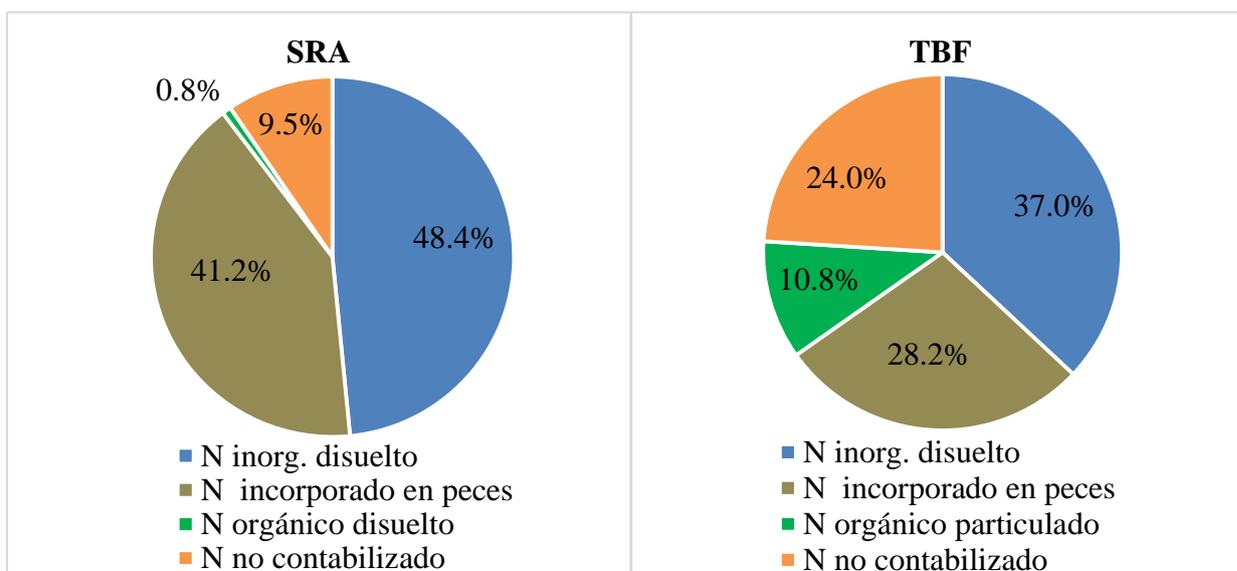
En los tanques con TBF el porcentaje de nitrógeno incorporado en la biomasa de peces fue sólo de 28.2% en promedio (Tabla 12). Nootong et al. (2011) reportaron que en tanques con sistemas bioflocs que fueron suplementados con alimento balanceado y tapioca, el nitrógeno recuperado en la biomasa de tilapias macho fue del 33% del total de nitrógeno que ingresó durante 50 días. Mientras que Avnimelech et al. (1994) encontraron que el 43% del nitrógeno total que ingresó como alimento es recuperado en la biomasa de tilapia cultivada en tanques de concreto con TBF, lo que asumieron que fue debido al reciclaje del nitrógeno y la utilización de la proteína microbiana producida *in situ*. El porcentaje de nitrógeno incorporado en la biomasa de paiches en los tanques con TBF en este experimento fue menor al reportado por Avnimelech et al. (1994) y Nootong et al. (2011). Es probable que en este experimento los peces no capturaron el biofloc producido *in situ* debido a su tendencia como carnívoro moderado (Fontenele y Vasconcelos, 1982) y si de repente fueron absorbidos los flóculos durante el nado o el boqueo este no fue asimilado en proteína intramuscular.

Por otra parte, se observa en la Figura 16 que se dio un mayor porcentaje de retención de nitrógeno en la biomasa de peces en los SRA en comparación con los tanques con TBF, debido a que los parámetros de calidad de agua fueron más estables en las unidades de recirculación y que se mantuvieron en el rango de confort de la especie a diferencia de los sistemas de bioflocs, en donde los altos niveles de SST, propios de la naturaleza del sistema, sumado a la fluctuación de las concentraciones de NAT (Figura 5) durante gran parte de la fase experimental, pudieron ocasionar una situación prolongada de estrés que produjo la reducción en la ingestión de alimento en las últimas semanas y que conllevó

finalmente a una pobre retención de nitrógeno en comparación con los sistemas de recirculación (Figura 16).

En cuanto a otros sistemas de cultivo para peces carnívoros, el porcentaje de nitrógeno retenido en la biomasa en este experimento es similar (en las unidades con TBF) y superior (en las unidades con SRA) al nitrógeno retenido en la biomasa de truchas juveniles (27 – 28%) en un cultivo en jaulas en aguas costeras (Hall et al., 1992) y un sistema de cultivo intensivo de trucha arcoíris en raceway en donde el porcentaje de nitrógeno en la biomasa de peces cosechados fue del 25% (Moraes et al., 2016).

Figura 16: Comparación del balance porcentual estimado promedio de las formas de nitrógeno presentes en las unidades con SRA y con TBF.



FUENTE: Elaboración propia

c. Nitrógeno orgánico disuelto y particulado

En los sistemas de recirculación fue medido también el nitrógeno orgánico disuelto que representó el 0.8% del total (Figura 16), y el cual incluye al nitrógeno orgánico soluble derivado de la dilución del alimento no consumido y las heces que no fueron removidas por el filtro mecánico.

Así mismo, en los tanques con TBF se determinó el nitrógeno orgánico particulado, que fue de 10.8% en promedio (Figura 16), que correspondería a los flóculos en suspensión que fueron muestreados en la columna de agua, producto de la asimilación del NAT mediante bacterias heterotróficas. Y cuyo porcentaje se encontró dentro del rango (9-14%) reportado por Azim et al. (2008) en un estudio de producción de proteína microbiana en tanques de fibra de vidrio durante 8 semanas y similar al porcentaje de nitrógeno contenido en biofloc (13%) referido por Nootong et al. (2011) en un cultivo de tilapias macho con cero recambios de agua durante 50 días.

d. Nitrógeno no contabilizado

En los sistemas de recirculación el nitrógeno no contabilizado representó en promedio el 9.5% (Figura 16), el cual incluye el nitrógeno proveniente de los sólidos removidos por el filtro mecánico, la volatilización de amoníaco y urea que no fueron determinados. Nootong et al. (2013) reportaron en un estudio del performance de un SRA en el cultivo de tilapia que el 9.5% del nitrógeno total representó los sólidos removidos por la unidad separadora. Este porcentaje es igual en promedio al porcentaje que no se contabilizó por la remoción de sólidos del filtro mecánico en el presente estudio. Además, según Kibria et al. (1997) y Kristiansen y Hessen (1992) el nitrógeno contenido en heces en Perca plateada *Bidyanus bidyanus* y salmón Atlántico *Salmo salar* correspondieron un 3.2% y 2.3% respectivamente del nitrógeno total suministrado. Según las referencias, el porcentaje de nitrógeno no contabilizado (9.5% en promedio) se distribuiría una parte en los sólidos removidos por el filtro (debido al alimento no consumido) y otra al contenido en heces y urea, siendo este un porcentaje menor.

En los tanques con TBF en este estudio el nitrógeno no contabilizado fue de 24% en promedio (Figura 16). Nootong et al. (2011) reportó un 32% de nitrógeno no contabilizado en el cultivo de tilapia macho en un sistema con cero recambios de agua, en el cual atribuye la pérdida de nitrógeno en sedimentos (lodos y alimento no consumido), denitrificación y volatilización de amoníaco (Thakur y Lin, 2003). Por otra parte, Gross et al. (2000) reportó una pérdida de 30% del nitrógeno total que ingresó a los estanques de cultivo de alevines de bagre de canal *Ictalurus punctatus* durante 133 días, debido a la denitrificación y volatilización de amoníaco.

En esta investigación el porcentaje de nitrógeno no contabilizado o perdido en los tanques con TBF fue similar a los estudios antes mencionados. Es probable que las pérdidas de nitrógeno pudieran deberse en su mayoría a los procesos de denitrificación, debido a los altos niveles de nitratos en el agua, 86 mg.L^{-1} en promedio (Tabla 8) y la acumulación de zonas anaerobias en el fondo por la sedimentación del alimento no consumido y de flóculos viejos que formaron lodos. Boyd y Tucker (1998) mencionan que el proceso de denitrificación se intensifica a temperaturas entre $25\text{-}35^{\circ}\text{C}$, pH entre 6–8 y alta disponibilidad de nitratos. Condiciones que se vieron favorecidas en este experimento.

Otra vía de pérdida de nitrógeno estimada en los tanques con TBF fue la volatilización de amoníaco. La cual fue impulsada por las altas concentraciones de NAT, 3.2 mg.L^{-1} en promedio (Tabla 6) y al vigoroso sistema de aireación. Según Hargreaves (1998) la volatilización del amoníaco se ve favorecida por el aumento en la concentración del amoníaco, pH, temperatura, tasa de evaporación y velocidad del viento.

4.4.2 Análisis de Componentes Principales

El análisis de componentes principales (ACP) permitió confirmar cuáles fueron las principales vías de transformación de nitrógeno inorgánico en ambos sistemas cerrados. Los resultados se exponen en la Tabla 14 y 16.

La matriz de correlaciones de Pearson de las variables físico químicas medidas en los SRA en este estudio se muestran en la Tabla 13. En esta matriz se puede observar que la variable NAT tiene una correlación alta y positiva con amoníaco (0.775). Mientras que se observa la significativa correlación positiva de la variable nitritos con la temperatura (0.413), y la significativa correlación negativa con el oxígeno disuelto (-0.383) y pH (-0.449). Por otro lado, se muestra la alta correlación negativa de nitratos con temperatura (-0.743) y la alta correlación positiva con pH (0.645). Además, se observa la correlación media y positiva de la variable amoníaco con el oxígeno disuelto (0.534) y con el pH (0.509).

Tabla 12: Matriz de correlaciones de Pearson de las principales variables físicas y químicas de calidad de agua en los tanques con SRA.

Variables	NAT	N-NO ₂	N-NO ₃	NH ₃	T (°C)	O.D.	pH
NAT	1.000	-0.019	-0.080	0.775	0.135	0.147	-0.079
N-NO ₂	-0.019	1.000	-0.034	-0.249	0.413	-0.383	-0.449
N-NO ₃	-0.080	-0.034	1.000	0.270	-0.743	0.017	0.645
NH ₃	0.775	-0.249	0.270	1.000	-0.298	0.534	0.509
T (°C)	0.135	0.413	-0.743	-0.298	1.000	-0.297	-0.757
O.D.	0.147	-0.383	0.017	0.534	-0.297	1.000	0.651
pH	-0.079	-0.449	0.645	0.509	-0.757	0.651	1.000

FUENTE: Elaboración propia

Del resultado del análisis de componentes principales de las principales variables físico químicas de calidad del agua de los tanques con SRA (Tabla 14) se obtuvieron tres componentes que explican la variabilidad total, el componente 1 explica el 45.7%; el componente 2, el 25% y el componente 3, el 15,9%. En total estos componentes explican el 86.6% de variabilidad total. El componente 1 presenta una alta correlación positiva con nitratos, amoníaco, oxígeno disuelto y pH (altos coeficientes positivos), así mismo una alta correlación negativa con temperatura (alto coeficiente negativo). Mientras que el componente 2 presenta altos coeficientes positivos para NAT y amoníaco. Por su parte, el componente 3 presenta una alta correlación positiva con nitritos y nitratos, y una correlación negativa con el oxígeno disuelto.

Tabla 13: Análisis de componentes principales de las variables físicas y químicas de calidad del agua de los tanques con SRA.

COMPONENTES	COMPONENTE 1	COMPONENTE 2	COMPONENTE 3
NAT	0.19	0.89	0.34
N-NO ₂	-0.55	-0.01	0.61
N-NO ₃	0.64	-0.45	0.58
NH ₃	0.69	0.66	0.23
T (°C)	-0.81	0.43	-0.14
O.D.	0.67	0.29	-0.47
pH	0.93	-0.21	-0.07
% de la varianza	45.7	25.0	15.9

FUENTE: Elaboración propia

El componente 1 refleja que, durante la nitrificación, en los tanques con SRA el oxígeno disuelto y el pH (coeficientes positivos) fueron determinantes para el éxito de este proceso y se encontraron en rangos adecuados, mientras que la temperatura fue determinante de forma inversa (coeficiente negativo), es decir que fue el único parámetro que estuvo alejado del rango óptimo para la nitrificación durante la mayor parte de la fase experimental según Gerardi (2002) (Figura 17). Sin embargo, el proceso de nitrificación se desarrolló lo cual es expresado en el alto coeficiente positivo de nitratos, que demostraría la acumulación por la conversión bacteriana de nitritos a nitratos. El componente 1 muestra además que la formación de amoníaco estuvo relacionada con el pH del agua (correlación positiva), a mayores pH la toxicidad del amoníaco aumenta.

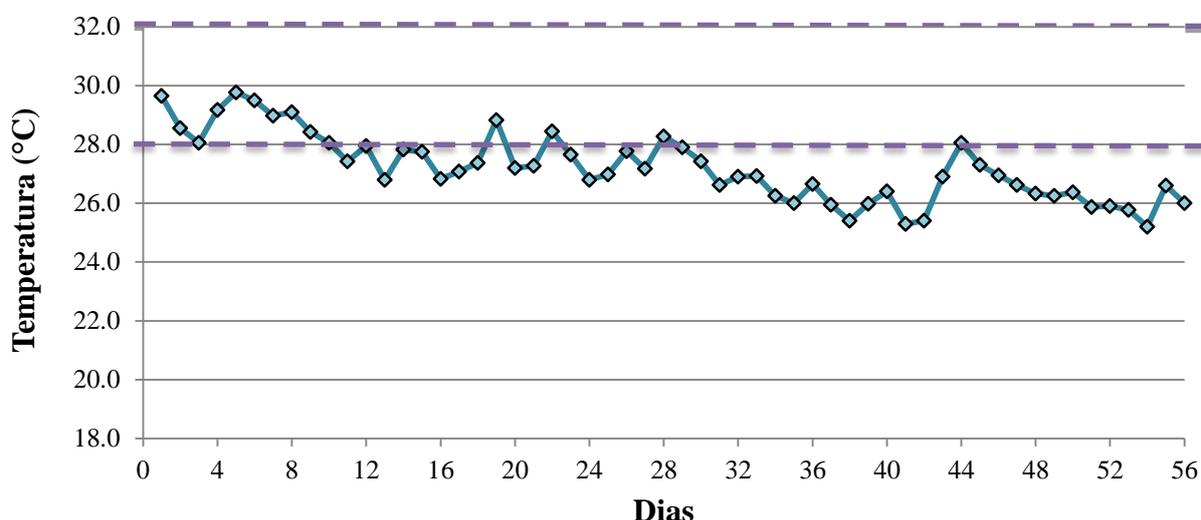


Figura 17: Variación promedio de la temperatura del agua de cultivo en los tanques con SRA.

FUENTE: Elaboración propia

El componente 2 expresa que el ión amonio del NAT fue usado como nutriente para el desarrollo de la nitrificación, sin embargo, también estuvo disponible como amoníaco (coeficiente positivo) y que si no hubiese sido controlado por las bacterias nitrificantes habría resultado en un riesgo para los peces en general debido a su toxicidad, sin embargo, el paiche es un pez que tolera altas concentraciones de NAT y con ello de amoníaco en el agua, lo cual es asociado a su capacidad de respiración aérea y rusticidad. Por otra parte, el componente 3 expresa que durante el proceso de nitrificación en una fase del experimento

hubo mayor predominio de bacterias amonio oxidantes que convirtieron el ión amonio a nitritos (alto coeficiente positivo). Es decir, se dio un proceso de nitrificación parcial, en donde el bajo suministro de oxígeno (bajo coeficiente) no haya sido el suficiente para el biofilm bacteriano durante los días 16 al 46 (Figura 5), por ello los nitritos hayan tenido valores elevados (relación inversa con OD) y no se haya completado el proceso de oxidación a nitratos (menor coeficiente que nitritos) mediante las bacterias nitrito oxidantes.

La matriz de correlaciones de Pearson de las variables físico químicas de calidad de agua de los TBF se muestra en la Tabla 15. En esta matriz se observa la fuerte correlación de la variable NAT con amoníaco (0.811). Por otro lado, se muestra la correlación negativa de las variables sólidos sedimentables (-0.685), sólidos suspendidos totales (-0.623), conductividad (-0.809) y melaza (-0.578) con la variable nitritos, además la correlación positiva de este último con la temperatura (0.877). Así mismo, se observa la significativa correlación positiva de la conductividad (0.491) y sólidos sedimentables (0.590) con la variable nitratos.

Tabla 14: Matriz de correlaciones de Pearson de las principales variables físicas y químicas de calidad de agua en los tanques con TBF.

Variables	SS	SST	NAT	N-NO ₂	N-NO ₃	NH ₃	T (°C)	O.D.	pH	Cond.	melaza
SS	1.000	0.921	-0.073	-0.685	0.590	-0.073	-0.658	-0.420	-0.024	0.890	0.035
SST	0.921	1.000	-0.082	-0.623	0.436	-0.171	-0.518	-0.564	-0.296	0.813	0.012
NAT	-0.073	-0.082	1.000	0.124	-0.230	0.811	0.248	-0.038	0.330	-0.086	-0.018
N-NO ₂	-0.685	-0.623	0.124	1.000	-0.197	0.156	0.877	0.318	-0.050	-0.809	-0.578
N-NO ₃	0.590	0.436	-0.230	-0.197	1.000	-0.040	-0.408	0.169	0.174	0.491	-0.305
NH ₃	-0.073	-0.171	0.811	0.156	-0.040	1.000	0.151	0.326	0.716	-0.116	-0.026
T (°C)	-0.658	-0.518	0.248	0.877	-0.408	0.151	1.000	0.132	-0.156	-0.775	-0.455
O.D.	-0.420	-0.564	-0.038	0.318	0.169	0.326	0.132	1.000	0.558	-0.501	0.183
pH	-0.024	-0.296	0.330	-0.050	0.174	0.716	-0.156	0.558	1.000	-0.013	0.096
Cond.	0.890	0.813	-0.086	-0.809	0.491	-0.116	-0.775	-0.501	-0.013	1.000	0.082
melaza	0.035	0.012	-0.018	-0.578	-0.305	-0.026	-0.455	0.183	0.096	0.082	1.000

FUENTE: Elaboración propia

Del resultado del análisis de componentes principales de las principales variables físico químicas de calidad del agua de los tanques con TBF se obtuvieron cuatro componentes que explican la variabilidad total (Tabla 16). El componente 1 explica el 42.07 % de la

varianza; el componente 2, el 21.38 %; el componente 3, el 15.03 % y el componente 4, el 13.31 %. En total estos componentes expresan el 91.79% de la variabilidad total.

Tabla 15: Análisis de componentes principales de las variables físicas y químicas de calidad del agua en los TBF.

COMPONENTES	COMP. 1	COMP. 2	COMP. 3	COMP. 4
SS	0.917	0.152	0.263	0.046
SST	0.879	-0.065	0.306	-0.115
NAT	-0.256	0.595	0.409	-0.577
N-NO ₂	-0.856	-0.220	0.372	0.202
N-NO ₃	0.493	0.200	0.322	0.730
NH ₃	-0.302	0.856	0.312	-0.211
T (°C)	-0.823	-0.273	0.370	-0.102
O.D.	-0.495	0.461	-0.359	0.566
pH	-0.164	0.882	-0.064	0.235
Cond.	0.944	0.146	0.143	-0.039
melaza	0.205	0.253	-0.833	-0.332
% de la varianza	42.1	21.4	15.0	13.3

FUENTE: Elaboración propia

El componente 1 presenta altos coeficientes positivos para sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales y conductividad, este componente refleja la síntesis de bacterias heterótrofas en las unidades con TBF. Así mismo, se observa que, en estas unidades al haberse dado bajos recambios de agua, la acumulación de iones metálicos provocó un incremento exponencial en la conductividad (Figura 18), que fue favorable para la biofloculación por la presencia de iones como Ca y Mg. Además, el factor 1, demuestra que la inmovilización heterotrófica inhibió la nitrificación, lo cual es representado en la correlación negativa con los nitritos (coeficiente negativo) que sólo fue observado en los últimos días del experimento cuando los SST se elevaron (coeficiente positivo) y las concentraciones de nitratos se mantuvieron casi constantes.

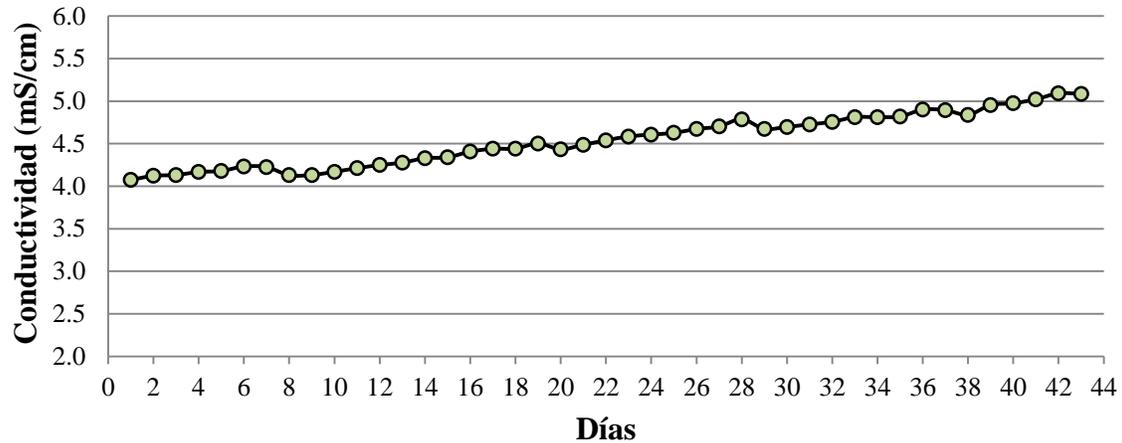


Figura 18: Concentraciones promedio de conductividad en los tanques con TBF.

FUENTE: Elaboración propia

En cuanto al coeficiente negativo de temperatura, este refleja el efecto negativo con la formación de flóculos, expresado en la formación de SST (alto coeficiente). El efecto de la temperatura con la floculación fue estudiado por Wilen et al. (2000), quien encontró que a bajas temperaturas (4°C) se produce defloculación, mientras que Krishna y Van Loosdrecht (1999) observaron que a altas temperaturas (30 a 35 °C) se produce el *bulking* filamentoso debido a una excesiva producción de polisacáridos extracelulares. Mientras que, De Schryver et al. (2008) sugieren una temperatura promedio de 20 a 25 °C para obtener flocs estables. En este experimento la temperatura en promedio en las unidades con TBF fue de 27.5°C, con un rango de 25.3 a 31.1°C durante la fase experimental, por encima del rango recomendado para obtener flocs estables, pero dentro de la zona de confort térmica de la especie.

Por otra parte, el componente 2 muestra altos coeficientes positivos para el NAT, amoníaco y pH. Este componente expresa el peligro de toxicidad del amoníaco. Los altos niveles de NAT, sumado a altos valores de pH (alta correlación positiva) determinaron los mayores niveles de amoníaco durante gran parte del experimento y sumado a otros factores posiblemente ocasionaron estrés en los peces, lo cual propició la vulnerabilidad a cualquier enfermedad y la baja asimilación del alimento.

A su vez el componente 3 presenta un alto coeficiente negativo para melaza y un coeficiente medio para el NAT. Este componente indica que la adición de melaza como fuente de carbono para las bacterias heterótrofas permitió reducir de alguna forma los niveles de NAT (relación inversa). Finalmente, el componente 4, nos demuestra que además de la eliminación de NAT mediante la inmovilización heterótrofa también hubo nitrificación bacteriana que ayudó a la reducción del NAT (coeficiente negativo) que produjo la acumulación de nitratos (alto coeficiente positivo), debido a las condiciones propicias para este proceso, como la alta disponibilidad de oxígeno disuelto (coeficiente positivo) por la intensa aireación en los tanques. Los niveles de nitratos en el agua se acumularon debido a que no hubo consumo por parte de las microalgas, por ello la fotosíntesis fue insignificante en comparación a la remoción heterótrofa y quimioautótrofa. La nitrificación fue determinante durante gran parte del experimento y contribuyó a la remoción de NAT, aunque no fue tan eficiente. Debido a la presencia de ambos grupos bacterianos, quimioautótrofos y heterótrofos, se dio una competencia por el oxígeno disuelto, por ello a lo largo del experimento hubo descensos de la concentración de esta variable, sobre todo en la tarde donde los procesos biológicos fueron más elevados (Figura 19). Esta competencia por el sustrato y el espacio redujo la eficiencia en la eliminación de NAT en los sistemas biofloc conllevando además a situaciones de estrés para los peces.

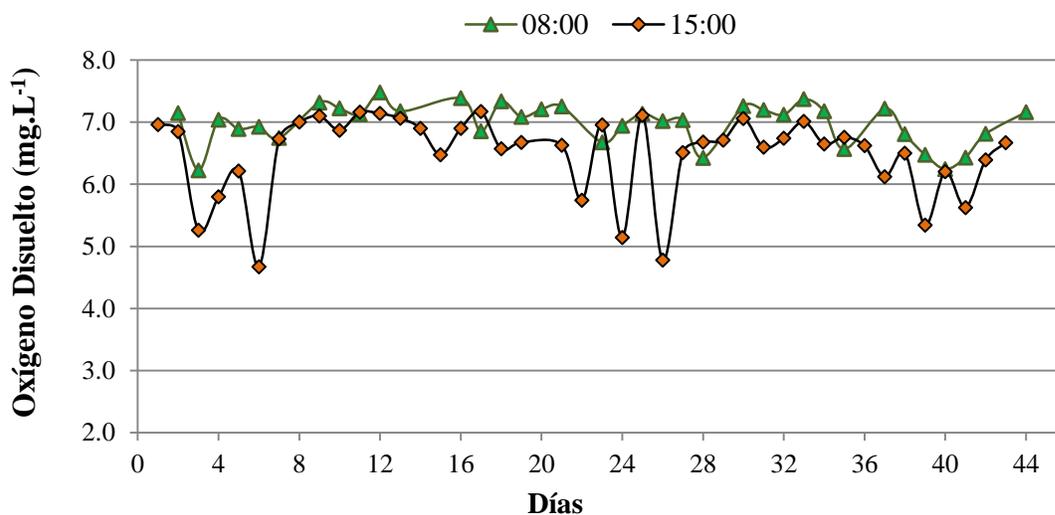


Figura 19: Concentraciones de oxígeno disuelto (15:00 horas) en los tanques con TBF.

FUENTE: Elaboración propia.

V. CONCLUSIONES

1. El SRA fue más eficiente que los sistemas con TBF en mantener la calidad del agua en rangos seguros de NAT, nitritos y nitratos, permitiendo una mayor retención de nitrógeno en la biomasa de peces.
2. La alta fluctuación de los niveles de NAT (0.3 a 4.8 mg.L^{-1}), amoníaco (0.006 - 0.14 mg.L^{-1}) y de SST (152 - 526 mg.L^{-1}) en el sistema TBF condujo a una situación severa de estrés en los peces provocando una baja retención de nitrógeno en la biomasa a diferencia del sistema SRA.
3. Los sistemas SRA y TBF controlaron hasta niveles seguros para juveniles de *A. gigas* las concentraciones iniciales de nitritos a valores menores a 1.5 mg.L^{-1} , así como la acumulación de nitratos hasta 74 y 114 mg.L^{-1} respectivamente.
4. El porcentaje de eliminación de NAT (VR), la tasa volumétrica de conversión de NAT (VTR) y la tasa volumétrica de conversión de nitritos (VNR) del biofiltro del SRA se mantuvo en rangos de 17 a 79% , de 29 a $281 \text{ g.m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$ y de 2 a $250 \text{ g.m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$ respectivamente, en el margen en los que operan la mayoría de biofiltros.
5. El porcentaje y la tasa de eliminación del NAT en los biofiltros del SRA fueron afectados por los niveles mayores a 25 mg.L^{-1} de SST, mientras que el VNR se vio afectado por las bajas concentraciones de oxígeno en el biofilm.
6. La principal vía de transformación de nitrógeno inorgánico (NAT, N-NO₂, N-NO₃) en los SRA fue la nitrificación (48.4%), mientras que en los sistemas con TBF fue la nitrificación (37%) y la inmovilización heterotrófica (10.8%).

VI. RECOMENDACIONES

- Comprobar el cultivo de paiches juveniles en sistemas de biofloc en menores rangos de SST (0 hasta 200 mg.L⁻¹) para evaluar la eliminación de NAT.
- Experimentar en el cultivo de paiches juveniles en sistemas de biofloc de tipo ex-situ.
- Evaluar el cultivo de paiche en etapa de juveniles con diferentes estrategias de adición de melaza (diaria y según la fluctuación de NAT).
- Comprobar la eficacia de eliminación de NAT y nitritos en biofiltros de sistemas de recirculación monitoreados en 24 horas, probando con frecuencias de retrolavado de 1 a 2 días.
- Se recomienda mantener los niveles de SST por debajo de 25 mg.L⁻¹ en los biofiltros de tipo sumergido, mejorando las unidades de retención de sólidos.
- Se recomienda monitorear frecuentemente el suministro de oxígeno para el biofilm nitrificante, adicionando un mecanismo de aireación como piedras difusoras cuando los niveles no sean óptimos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICAS

1. ALATORRE, O. 2007. Calidad del agua y principios de diseño en los sistemas de recirculación acuícola (SRA). Tesina Especialidad en Ing. de invernaderos. Santiago de Queretaro, MX.UAQ. 67 p.
2. ALCÁNTARA, F., 1991. Observations on reproductive behavior of paiche, *Arapaima gigas*, in captivity. *Folia Amazónica* 2: 165–168 p.
3. ALCÁNTARA, B. F.; GUERRA, H. 1992. Cultivo de paiche, *Arapaima gigas*, utilizando bujurqui, *Cichlassoma bimaculatum*, como presa. *Folia Amazónica*. V. 4 N° 1: 129-139 p.
4. ALDEA, M.; ALCÁNTARA, F.; PADILLA, P. 2002. Cultivo de paiche *Arapaima gigas* (cuvier, 1829) con dietas artificiales en jaulas flotantes. Resúmenes de exposiciones del I Congreso Nacional de Acuicultura. Universidad Nacional Agraria la Molina; Facultad de Pesquería. Lima – Perú. 33p.
5. AL-HAFEDH, Y.S.; ALAM, A.; M. AFAQUE. 2003. Performance of plastic biofilter media with different configuration in a water recirculation system for the culture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquacultural Engineering* N° 29: 139–154 p.
6. APHA-AWWA-WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Edition. New York, 2-27 a 2-29, method 2320.
7. APHA-AWWA-WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Edition. New York, 2-55 a 2-59, method 2540 D.

8. ARANA, L.V. 2004 Fundamentos de acuicultura. Florianópolis: Universidad Federal de Santa Catarina Editora. 348 p.
9. ARELLANO, R. 2005. Evaluación de la proliferación de *bulking* en sistemas de tratamiento de lodos activos. Tesis. Ingeniero Civil. Concepción, CL. UBB. 124 p.
10. ARGUMEDO, E. 2005. Arawanas Manual para la cría comercial en cautiverio; Asociación de Acuicultores del Caquetá (ACUICA). Florencia- Colombia. 105p.
11. ATENCIO-GARCÍA, V. 2001. Producción de alevines de especies nativas. MVZ Córdoba, 6(1).9-14
12. AUDELO, J.M. 2011. Balance de nutrientes y respuesta productiva de *Litopenaeus vannamei* en mesocosmos con cero recambio de agua y sustratos artificiales. Tesis doctor en ciencias. La paz, MX. CIBNOR. 79 p.
13. AVENDAÑO, L. M. 2011. Estudio de la población de bacterias nitrificantes y su relación con los parámetros físico-químicos, biológicos y operacionales en una EDAR con sistema convencional de Fangos Activos. Tesis Master en Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente. Valencia, ES .Universidad Politécnica de Valencia. 88 p.
14. AVNIMELECH, Y., LACHER, M., 1979. A tentative nutrient balance for intensive fish ponds. *Bamidgeh* 31, 3–8.
15. AVNIMELECH, Y., MOKADY, S., SCHROEDER, G.L., 1989. Circulated ponds as efficient bioreactors for single-cell protein production. *Isr. J. Aquac.-Bamidgeh* 41 (2): 58–66 p.
16. AVNIMELECH, Y., DIAB, S., KOCHVA, M. 1992. Control and utilization of inorganic nitrogen in intensive fish culture ponds. *Aquaculture and Fisheries Management* 23: 421-430.
17. AVNIMELECH, Y., KOCHVA, M., DIAB, S. 1994. Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. *Israel J. Aquaculture Bamidgeh*. Vol. 46 (3): 119–131 p.

18. AVNIMELECH, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. Vol. 176: 227–235 p.
19. AZIM, M.E.; LITTLE, D.C.; BRON, J.E. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C: N ratio in feed and the implications for fishculture. *Bioresource Technology* Vol. 99: 3590–3599 p.
20. BARD, J.; IMBIRIBA, E.P. 1986. Piscicultura do pirarucu, *Arapaima gigas*. Belem: EMBRAPA-CPATU. Circular Técnica, N° 52: 17 p.
21. IMBIRIBA, E.P. 1991. Produção e manejo de alevinos de pirarucu, *Arapaima gigas* (CUVIER). Belem: EMBRAPA-CPATU. Circular Técnica, N° 57. 19 p.
22. BALBUENA, E.D. 2011. Manual Básico de Piscicultura para Paraguay. 49 p.
23. BAUTISTA J.C.; RUIZ - VELAZCO, J.M. 2007. Calidad de agua para el cultivo de Tilapia en tanques de geomembrana. *Revista Fuente* Año 3 No. 8.
24. BITTON, G. 1994. *Wastewater Microbiology*. Wiley-Liss. Tercera Edición. Universidad de Florida. Estados Unidos.
25. BOVENDEUR, J., ZWAGA, A.B., LOBEE, B.G.J., BLOM, J.H., 1990. Fixed-biofilm reactors in aquacultural water recycle systems: effect of organic matter elimination on nitrification kinetics. *Water Res.* Vol. 24, No 2: 207–213 p.
26. BOYD, C.E. 1990. *Water quality in ponds for aquaculture*. Alabama: Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University/Ed. Birmingham Publishing Co. 482 p.
27. BOYD, C. 2001. Estándares de la calidad del agua: amoníaco de nitrógeno total. *Advocate*, agosto 2001: 84-85 p.
28. BOYD, C.E., TUCKER, C.S., 1998. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Kluwer Academic Publishers, Nowell, MA. 700 p.

29. BRUNE, D.E., KIRK, K., EVERSOLE, A.G., 2004. Autotrophic intensification of pond aquaculture; shrimp production in a partitioned aquaculture system. Proceedings of the Fifth International Conference on Recirculating Aquaculture, Roanoke, Virginia, 201–210 p.
30. BURFORD, M.A., THOMPSON, P.J., MCINTOSH, R.P., BAUMAN, R.H., PEARSON, D.C. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219, 393–411p.
31. CARDENAS, S. 2008. Sistemas de Recirculación en Acuicultura. IFAPA, Centro El Toruño. 85p.
32. CASILLAS-HERNÁNDEZ, R., F. MAGALLÓN-BARAJAS, G. PORTILLO-CLARCK, F. PÁEZ-OSUNA. 2006. Nutrient mass balances in semiintensive shrimp ponds from Sonora, Mexico using two feeding strategies: Trays and mechanical dispersal. *Aquaculture* 258: 289–298.
33. CASILLAS-HERNÁNDEZ, R., SILVA ONTIVEROS, C. A., CAMACHO ESTRADA, M. A., IBARRA-GÁMEZ, J. C. AND LARES-VILLA, F. 2012. Water quality and nutrient budget in experimental closed tilapia *Oreochromis niloticus* culture systems. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* 8 (2): 46-55.
34. CAVERO, B.A.S., ROUBACH, R., PEREIRA-FILHO, M., ITUASSU, D.R., GANDRA, A.L. & CRESCENCIO, R. 2002. Potential for cage culture of pirarucu (*Arapaima gigas*) in the Amazon region. In *Global Aquaculture Advocate*, Vol. 5, 59-60 p.
35. CAVERO, B., PEREIRA-FILHO, M., ROUBACH, R., ITUASSÚ, D., GANDRA, A., CRESCÊNCIO, R. 2003. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de Pirarucú em ambiente confinado. *Pesq. Agropec. Brasil*, Brasília, v. 38, Nº 1, 103-107 p.
36. CAVERO, B.; PEREIRA-FILHO, M.; MOREIRA, A.; LEÃO DA FONSECA, F.A.; RABELLO D.; ROUBACH, R.; AKIFUMI, E. 2004. Tolerância de juvenis de

- pirarucu aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.39, N° 5: 513-516 p.
37. CHEN, S.; LING, J.; BLANCHETON, J.P. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering* .Vol. 34: 179–197 p.
38. CHU- KOO, F. 2006. Domesticación y crianza en cautiverio del *Arapaima gigas*: Manejo, aspectos reproductivos y nutricionales. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Iquitos - Perú. 50 p.
39. CHU-KOO, F.; PADILLA, P.; SANDOVAL, M.; YUTO, J.A.; MORI, L. 2007. Influencia de la alimentación con peces forraje en el crecimiento de juveniles de paiche *Arapaima gigas* en ambientes controlados. *Art. Científico N°4*. Proyecto Bioadamaz. Iquitos – Perú
40. CHU-KOO, F. & ALCÁNTARA, F., 2009. Paiche doméstico en la Amazonía: Perspectivas de una crianza sostenible. *Pesca Responsable* 57: 32-33 p.
41. COLT, J., LAMOUREUX, J., PATTERSON, R., ROGERS, G., 2006. Reporting standards for biofilter performance studies. *Aquacult. Eng.* 34 (3): 377–388 p.
42. CRAB, R. 2010. Bioflocs technology: an integrated system for the removal of nutrients and simultaneous production of feed in aquaculture. PhD thesis, Ghent University. 178 pp
43. CRAIG, S., HELFRICH, L.A., 2002. Understanding Fish Nutrition, Feeds and Feeding (Publication 420–256). Virginia Cooperative Extension, Yorktown (Virginia). 4 pp.
44. DAWES C.J. 1991. Botánica marina. Editorial Noriega Limusa. México. 673p
45. DEL RISCO, M., VELÁSQUEZ, J., CHU-KOO, F., PADILLA, P., MORI-PINEDO, L., SANDOVAL, M. 2008. Efecto de tres niveles de proteína dietaria en el crecimiento de juveniles de paiche, *Arapaima gigas* (Shinz, 1822). *Folia amazónica* Vol. 17 N° 1-2: 29 – 37 p.

46. DE SCHRYVER, P., CRAB, R., DEFOIRD, T., BOON, N., VERSTRAETE, W. 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* (2008), 277: 125–137 p.
47. DUBOROW, R. M.; CROSBY, D. M.; BRUNSON, M. W. 1997. Ammonia in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center, [S.l.], n. 463p.
48. EBELING J., JENSEN G., LOSORDO T., MASSER M., MCMULLEN J., PFEIFFER L., RAKOCY J., SETTE M. 1995. Model Aquaculture Recirculation System (MARS): Engineering and Operations Manual: Aquaculture Education Project. 50 p.
49. EBELING, J.M., TIMMONS, M.B., BISOGNI, J.J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257: 346–358 p.
50. EGNA, H.; BOYD, C. 1997. Dynamics of pond aquaculture. CRC Press, Boca Raton, Florida.
51. FONTENELE, O., 1948. Contribuição para o conhecimento da biologia do pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier), emcativoiro (Actinopterygii, Osteoglossidae). *Rev. Brasil. Biol.*, v.8 (4):445–59 p.
52. FONTENELE, O.; VASCONCELOS, E.A. 1982. O pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier, 1817), nos açudes do Nordeste: Resultados de sua aclimação e prováveis causas de depleção de seus estoques. *Bol. Téc. DNOCS, Fortaleza*, 40(1): 43-66 p.
53. FRANCO, H. 2005. Contribución al conocimiento de la Reproducción del Pirarucú *Arapaima gigas* (CUVIER, 1817) (Pisces: Arapaimidae) en cautiverio. Trabajo de grado, Programa de Biología. Universidad de la Amazonía. Florencia – Caqueta.
54. FRANCO, H.; PELAEZ, M. 2007. Cría y producción de pirarucú en cautiverio-experiencias en el Piedemonte Caqueteño. Florencia (Caquetá-Colombia): Universidad de la Amazonia. 50 p.
55. GARCIA, E. 2014. Pesca en la Amazonía cae en 54% por cambio climático, tala y narcotráfico. *Gestión*, Lima, PE, abr. 2014.

56. GARCÍA-PULIDO, D.; GALLEGO-ALARCÓN, I.; DÍAZ-DELGADO, C.; FALL, C.; BURROLA-AGUILAR, C. 2011. Recirculación y acondicionamiento de agua en truticultura. *Tecnología y Ciencias del Agua* Vol. II, núm. 2: 83-96 p.
57. GARRIDO, J. M.; VAN BENTHUM, W. A. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. 1997. Influence of Dissolved Oxygen Concentration on Nitrite Accumulation in a Biofilm Airlift Suspension Reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 53: 168–178 p.
58. GERARDI, M. 2002. Nitrification and denitrification in the activated sludge process. Wiley Interscience. Nueva York. Estados Unidos.
59. GUERDAT, T., LOSORDO, T., CLASSEN, J., OSBORNE, J., and DELONG, D. An evaluation of commercially available biological filters for recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*. Vol. 42: 38-49 p.
60. GONÇALVES, E.; BANHOS, A.; QUEIROZ, V.; MELO, A. R.; GAZZINEO, M.; CASTELO BRANCO, Í. R.; ROCHA, R.; FARIAS, F. H. 2012. Effects of stocking density on the performance of juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) in cages. *Aquaculture*, 370, 96-101.
61. GONZÁLEZ-FÉLIX, M., PÉREZ-VELÁZQUEZ, M. 2006. México. Un Panorama de los Presupuestos de Nitrógeno para Cultivo de Camarón. *Avances en Nutrición Acuícola VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 174-181 p.
62. GONZÁLEZ-FÉLIX, M., PEREZ-VELAZQUEZ, M., VELAZCO-RAMEÑOS, J.G., GOMEZ-JIMENEZ, S., ALLEN DAVIS, D. 2007. Nitrogen budget for a low salinity, zero-water Exchange culture system: I. Effect of dietary protein level on the performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone), *Aquaculture Research*, 38: 798-808 p.
63. GREINER, A.D., TIMMONS, M.B., 1998. Evaluation of the nitrification rates of microbead and trickling filters in an intensive recirculating tilapia production facility. *Aquacult. Eng.* Vol.18: 189–200 p.

64. GROSS, A.; BOYD, C.E.; WOOD, C.W. 2000. Nitrogen transformations and balance in channel catfish ponds. *Aquacultural Engineering* Vol. 24. 14 p.
65. HAGOPIAN, D.S.; RILEY, J.G. 1998. A closer look at the bacteriology of nitrification: *aquacultural engineering*, Vol. 18: 223–244 p.
66. HALL, POJ.; HOLBY, O.; KOLLBERG, S.; SAMUELSSON, M. 1992. Chemical fluxes and mass balances in a marine fish cage farm. *Nitrogen. Mar Ecol Prog Ser* 89: 81– 91 p.
67. HARIYADI, S., TUCKER, C.S., STEEBY, J.A., VAN DER PLOEG, M., BOYD, C.E. 1994. Environmental conditions and channel catfish *Ictalurus punctatus* production under similar pond management regimes in Alabama and Mississippi. *J. World Aquacult. Soc.* 25, 236–249 p.
68. HARGREAVES, J. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* Vol. 166: 181–212 p.
69. HARGREAVES, J. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 34: 344–363 p.
70. HARGREAVES, J. 2013. *Biofloc Production Systems for Aquaculture*. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). N° 4503.
71. HARI, B., MADHUSOODANA KURUP, B., VARGHESE, J.T., SCHRAMA, J.W., VERDEGEM, M.C.J., 2004. Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture* 241, 179– 194 p.
72. HARWANTO, D.; OH, S-Y.; JO, J-Y. 2011. Comparison of the Nitrification Efficiencies of Three Biofilter Media in a Freshwater System. *Fisheries and Aquatic Sciences*. Vol. 14, N° 4: 363-369 p.
73. HIGGINS, M.J.; NOVAK, J.T. 1997. Dewatering and settling of activated sludges: The case for using cation analysis. *Water Environment Research*, 69: 225-232 p.

74. HOPKINS, J.S., D.R. HAMILTON, P.A. SANDIFER, L.C. BROWDY, A.D. STOKES. 1993. Effect of water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *J. World Aquac. Soc.* 24: 305-320 p.
75. HUGUENIN, J.E., COLT J. 1989. Design and operating guide for aquaculture seawater systems. Editorial Elsevier. E.U.A. 263 p.
76. IMBIRIBA, E.P.; LOURENÇO, J.B.; DE MOURA CARBALHO, L.O. BRANDÃO, G.L.; ULIANA, D.; BRITO, F.L. 1996. Criação de pirarucu. EMBRAPA-CPATU. Brasília-DF. 93 p.
77. IMBIRIBA, E.P. 2001. Potencial de Criação de pirarucu em cativeiro. *Acta Amazonica* 31(2):299-316 p.
78. JACKSON, C., PRESTON, N., THOMPSON, P.J., BURFORD, M. 2003. Nitrogen Budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture* 218: 397-411 p.
79. JIMENEZ, R., ZAMORA, J., ZUÑIGA, G. 2015. Determinación del flujo de agua para la biorremediación en sistemas recirculados acuaculturales utilizando tapetes microbianos construidos. *Latin American Journal of Aquatic Research. Res.*, 43(1): 234-247p.
80. JORAND, F., ZARTARIAN, F., THOMAS, F., BLOCK, J.C., BOTTERO, J.Y., VILLEMIN, G., URBAIN, V., MANEM, J. 1995. Chemical and structural (2d) linkage between bacteria within activated-sludge flocs. *Water Res.* Vol. 29, N° 7: 1639–1647 p.
81. KIR, M. 2009. Nitrification performance of a submerged biofilter in a laboratory scale size of the recirculating shrimp system. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9, 209-214 p.
82. KIR, M.; TIMUR, M. 2009. Nitrification Performance of the Submerged Biofilter Related to Time Intervals after Backwashing. *Ozean Journal of Applied Sciences* 2(4): 465-471 p.

83. KRISHNA, C.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M., 1999. Effect of temperature on storage polymers and settleability of activated sludge. *Water Res.* 33 (10): 2374–2382 p.
84. KUBITZA, F. 1999. *Qualidade da agua na produção de peixes*. Jundiaí: Ed. Degaspari. 97p.
85. KUBITZA, F. 2011. Cultivo de Tilapias en sistema de “Bioflocos”, sin renovación de agua. *Panorama da Acuicultura*.
86. KUBITZA, F. 2003 *Qualidade da água no cultivo de camarões e peixes*. Jundiaí: CIP – USP Editora. 228 pp.
87. LAWSON, T.B., 1995. *Fundamentals of Aquacultural Engineering*. Chapman and Hall, New York, 355 pp.
88. LOSORDO, T.; MASSER, M. P. & RAKOCY, J., 1998. *Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: An Overview of Critical Considerations*. Southern Regional Aquaculture Centre, USA. Publication N° 451. 6 pp.
89. LOYLES, C; MALONE, R. 1997. A Sodium Bicarbonate Dosing Methodology for pH Management in Freshwater-Recirculating Aquaculture Systems, *The Progressive Fish-Culturist*. 59 (3): 198-205 p.
90. LULING, K., 1971. Der Riesenfisch *Arapaima gigas* in den Fliissen und Seen Amazoniens. *Natur Museum*, 101: 373-386 p.
91. LUO, G.; LIANG, W.; TAN, H.; YAO, C.; ZHANG, N.; LU, L. 2013. Effects of calcium and magnesium addition on the start-up of sequencing batch reactor using biofloc technology treating solid aquaculture waste. *Aquacultural Engineering* N° 57, 32– 37 p.
92. MALONE, R.F.; CHITTA, B.S.; DRENNAN, D.G. 1993. Optimizing nitrification in bead filters for warmwater recirculating aquaculture systems. In *Proceedings of an Aquacultural Engineering Conference*, Spokane, Washington. June 21-23, 1993. *Techniques for Modern Aquaculture*. 315-325 p.

93. MALONE, R.F., 1995. Floating media biofilter. US Patent No. 5. 445-740 p.
94. MALONE, R.F., BEECHER, L.E., 2000. Use of floating bead filters to recondition recirculating waters in warmwater aquaculture production systems. *Aquacult. Eng.* 22: 57–73 p
95. MASSER, M.P., RAKOCY, J. AND LOSORDO, T.M. 1999. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: Management of Recirculating Systems. SRAC Publication No. 452, 12 p.
96. MCINTOSH, R.P., 1999. Changing paradigms in shrimp farming: I. General description. *Global Aquaculture Advocate* 2 (4/5), 40–47p.
97. MCINTOSH, R.P., 2001. High rate bacterial systems for culturing shrimp. In: Summerfelt, S.T., et al. (Ed.), *Proceedings from the Aquacultural Engineering Society's 2001 Issues Forum*. Shepherdstown, West Virginia, USA. Aquaculture Engineering Society: 117–129 p.
98. MEJIA, C. 2014. Dinámica del nitrógeno en bioreactores de un sistema de producción de alevinos machos de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con Tecnología Biofloc. Tesis Ingeniero Pesquero. Lima, PE. UNALM. Sin publicar. 90 p.
99. MICHAEL, P.M., JAMES, R., LOSORDO, T.M., 1995. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: Management of Recirculation Systems. Louisiana State University Agricultural Center and Louisiana Cooperative Extension service. Publ. No. 2584 (500) 2/95, 1–12p.
100. MICHAUD, L. BLANCHETON, J.P.; BRUNI, V.; PIEDRAHITA, R. 2006. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquacultural Engineering*, Vol.34: 224–233 p.
101. MIKKELSEN, L.H.; GOTFREDSEN A.K.; AGERBAEK M.L.; NIELSEN P.H.; KEIDING K. 1996. Effects of colloidal stability on clarification and dewatering of activated sludge. *Water Sci. Technol.*, 34: 449 – 457 p.

102. MIRANDA-BAEZA, A., D. VOLTOLINA, M.A. BRAMBILLA-GÁMEZ, M.G. FRÍAS-ESPERICUETA, J. SIMENTAL. 2007. Effluent characteristics and nutrient loading of a semi-intensive shrimp farm in NW Mexico. *Vie et Milieu*. 57: 21-27 p.
103. MORAES, M. A. B.; CARMOA, C. F.; TABATAB, Y. A.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M.; MERCANTE, C. T. J. 2016. Environmental indicators in effluent assessment of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in raceway system through phosphorus and nitrogen. *Braz. J. Biol.* 8 pp.
104. MORALES, C. J. 1982. Acuicultura marina animal. Ph. D. in Biology, Massachusetts Institute of Technology. 670 p.
105. NOOTONG, K.; PAVASANT, P.; POWTONGSOOK, S. 2011. Effects of Organic Carbon Addition in Controlling Inorganic Nitrogen Concentrations in a Biofloc System. *Journal of the World Aquaculture Society*. Vol. 42 (3): 339-346 p.
106. NGUYEN, T.P., HANKINS, N.P., HILAL, N., 2007. A comparative study of the flocculation behaviour and final properties of synthetic and activated sludge in wastewater treatment. *Desalination* N° 204, 277–295 p.
107. OCHIENG, E.; MUSA, S.M.; MULANDA, C.; ABWAO, J.O.; MBONGE, J. 2014. An Appraisal of the Feasibility of Tilapia Production in Ponds Using Biofloc Technology: A review. *International Journal of Aquatic Science*. Vol. 5 (1). 21-39 p.
108. OHASHI, A.; VIRAJ DE SILVA, D.G.; MOBARRY, B.; MANEM, J.A.; STAHL, D.A.; RITTMANN, B.E. 1995. Influence of substrate C/N ratio on the structure of multi-species biofilms consisting of nitrifiers and heterotrophs. *Water Sci. Technol.* Vol. 32: 75–84 p.
109. ONO, E.A.; HALVERSON, M.R.; KUBITZA, F. 2004. Pirarucu - O gigante esquecido. *Panorama Aqüic.*, 14(81): 14-25 p.
110. PADILLA, P.; ISMIÑO, R.; ALCÁNTARA, F.B.; TELLO, S. 2002. Efecto de la tasa de alimentación en el crecimiento del paiche, *Arapaima gigas*. In: *Memorias: Manejo de Fauna silvestre en Amazonía y Latinoamérica*. 59-62 p.

111. PÁEZ-OSUNA, F. 2001. Camaronicultura y medio ambiente. Instituto de ciencias del Mar y Limnología, Estación Mazatlán, UNAM, Programa Universitario de Alimentos y El Colegio de Sinaloa. México D.F. 451 p.
112. PARKER, R. 2000. Aquaculture Science. 2nd ed. Editorial Delmar, Albany, NY. 621pp.
113. PEREIRA, L.P.; MERCANTE, C.T. 2005. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Umarevisão. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 31(1): 81 – 88 p.
114. PFEIFFER, T. AND MALONE, R. 2006. Nitrification performance of a propeller-washed bead clarifier supporting a fluidized sand biofilter in a recirculating warmwaterfish system. *Aquacult. Eng.*, 34: 311–321 p.
115. PHULIA, V.; MANDAL, B.; BERA, A.; SINGH, S.K.; DAS, R.; JAMWAL, A. 2012. Factors Controlling Biofloc Characteristics. *World aquaculture*, 59-61 p.
116. PIEDRAHITA, R.H. 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture* 226: 35–44 pp.
117. POLEO, G; ARANBARRIO, J; MENDOZA, L; ROMERO, O. 2011. Cultivo de Cachama Blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 46 (4): 429-437 p.
118. PRIETO, L.R. 2001. Uso de filtro biológicos en la larvicultura del camarón *Penaeus vannamei*. Tesis de grado, Acuicultor. Guayaquil, EC. Escuela Superior Politécnica del Litoral. 66 pp.
119. PRODUCE (Ministerio de la Producción). 2003. Anuario Estadístico 2002.
120. REDDY, K.R.; PATRICK, J.W.H. 1975. Effect of alternate aerobic and anaerobic conditions on redox potential, organic matter decomposition and nitrogen loss in a flooded soil. *Soil Biol. Biochem.*, 7 (2): 87 – 94 p.

121. READ, P., FERNANDES, T., 2003. Management of environmental impacts of marine aquaculture in Europe. *Aquaculture* 226, 139–163 p.
122. REBAZA, M.; ALCÁNTARA, F.; VALDIVIESO, M. 1999. Tratado de Cooperación amazónica. Manual de piscicultura del paiche *Arapaima gigas* Cuvier. Caracas, VE. 72p.
123. REBAZA, M.; REBAZA, C.; DEZA, S. 2006. Avances en el cultivo de paiche, *Arapaima gigas*, en jaulas flotantes en el Lago Imiría, Perú. In: Renno, J. F.; García-Dávila, C.; Duponchelle, F.; Núñez, J. (Eds). *Biología de las Poblaciones de Peces de la Amazonía y Piscicultura*. 169-172 p.
124. REYES, A.M. 2009. Análisis y control de abultamiento filamentoso en una planta de tratamiento de efluentes. Tesis Ingeniero Químico. Veracruz, MX. Universidad Veracruzana. 72 p.
125. RIDHA, M.T.; CRUZ, E.M. 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*. Vol. 24: 157–166 p.
126. SAGRATZKI-CAVERO, B, PEREIRA-FILHO M, MOREIRA, A, LEÃO DA FONSECA, F, ITUASSÚ, D, ROUBACH, R, AKIFUMI ONO, E. 2004. Tolerância de juvenis de pirarucua o aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Pesquisas em Aqüicultura. Manaus, AM
127. SAINT-PAUL, U. 1986. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes; a review. *Aquac.* Vol. 54: 205-240 p.
128. SANDU, S.I., BOARDMAN, G.D., WATTEN, B.J., BRAZIL, B.L., 2002. Factors influencing the nitrification efficiency of fluidized bed filters with a plastic bead medium. *Aquacultural Engineering* Vol. 26: 41–59 p.
129. SUBRAMANIAN, S.; SONG, R.; TYAGI, D.; SURAMPALLI, R. Y. 2009. *Biofloculants: Chapter 7*. 146-167 p.

130. SUGIURA, S.H., MARCHANT, D.D., WIGINS, T., FERRARIS, R.P. 2006. Effluent profile of commercially used low-phosphorus fish feeds. *Environmental Pollution* 140, 95–101p.
131. SUMMERFELT, S.T. 2006. Design and management of conventional fluidized-sand biofilters. *Aquacultural Engineering* Vol. 34, 275–302 p.
132. TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA, C.S.; SILVA, A.L.; SAMPAIO, S.M. 2010. Relação peso-comprimento e fator de condição relativo (Kn) do pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) em cultivo semi-intensivo no estado do Amazonas, Brasil. *Revista Brasileira de Zootecias* 12 (1): 59-65 p.
133. TETZLAFF, B.L.; HEIDINGER, R.C. 1990. Basic Principles of Biofiltration and System Design. Fisheries Research Laboratory, Southern Illinois Univ., Carbondale. SIUC Fisheries Bulletin no. 9A.
134. TEZUKA, Y. 1969. Cation-dependent flocculation in a *Flavobacterium* species predominant in activated sludge.” *Appl. Microbial.*, Vol. 17(2), 222-226 p.
135. THAKUR, D.P. & LIN, C.K. 2003. Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Aquacultural Engineering* 27, 159-176 p.
136. THOMAN, E.S., INGALL, E.D., DAVIS, D.A., ARNOLD, C.R. 2001. A nitrogen budget for a closed, recirculating mariculture system. *Aquacultural Engineering* 24, 195-211p.
137. TIDWELL, J. 2012. Aquaculture production systems. World Aquaculture Society. New Delhi, IN, Wiley-Blackwell. 415 p.
138. TIMMONS, M.B.; EBELING, J.M.; WHEATON, F.W.; SUMMERRFELT, S.T.; VINCI, B.J. 2002. Recirculating aquaculture systems. 2ed. New York: Cayuga Aqua Venture. 769 p.

139. TRASVIÑA A.G.; CERVANTES, M.; PEREZ E.; Y TIMMONS, M. 2007. Sistema de recirculación modular para uso familiar/multi-familiar. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Mexico. 32 p.
140. TSENG, K.F. AND WU, K.L. 2004. The ammonia removal cycle for submerged biofilter used in a recirculating culture system. *Aquacult. Eng.*, 31: 17–30 p.
141. UNIVERSIDAD DE ALICANTE. 2011. Análisis Multivariante con SPSS. Reducción de Datos: Análisis de Componentes Principales y Factorial (en línea). Alicante, ES. Consultado: 20 ago. 2015. Disponible en: <http://web.ua.es/es/lpa/docencia/practicas-analisis-exploratorio-de-datos-con-spss/practica-5-analisis-multivariante-con-spss-reduccion-de-datos-analisis-de-componentes-principales-y-factorial.html>
142. UNIVERSIDAD OBERTA DE CATALUNYA (UOC). Terrádez, M. s.f. Análisis de componentes principales (en línea). Consultado: 20 ago. 2015. Disponible: http://www.uoc.edu/in3/emath/docs/Componentes_principales.pdf
143. VAN BENTHUM, W.A.J.; VAN LOOSDRECHT, M.D.M.; HEIJNEN, J.J. 1997. Control of heterotrophic layer formation on nitrifying biofilms in a biofilm airlift suspension reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 53, No. 4. 397 – 405 p.
144. VILLARREAL, L.E.; ARREDONDO, J.L.; GOMEZ, J.G.; INGLE, G. 1998. Evaluación del funcionamiento de los biofiltros de la planta acuícola de la UAM-I. Universidad Autonoma Metropolitana-Iztapalapa. MX. 7-20 p.
145. WESTERMAN, P.W., LOSORDO, T.M., WILDHABER, M.L., 1996. Evaluation of various biofilters in an intensive recirculating fish production facility. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* N° 39, 723–727 p.
146. WILEN B.M.; NIELSEN J.L.; KEIDING K.; NIELSEN P.H. 2000. Influence of microbial activity on the stability of activated sludge flocs. *Colloid Surf. B.*, 18: 145 - 156 p.

147. WILLEN B.M.; BALMER P. 1999. The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. *Water Res.*, 33: 391- 400 p.
148. WURTS, W. A.; DURBOROW, R. M. 1992. Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Publication No. 464. Liming Fishponds 3. In *Auburn University For.*
149. YOUNG, A. 2002. Nitrogen budgets for your dairy. Utah State University Extension. *Electronic Publishing*AG/Dairy-02, 1-4p.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1. Dosis de bicarbonato de sodio (g) requerida para alcanzar el equilibrio de alcalinidad para un volumen dado basándose en la diferencia progresiva desde el nivel de alcalinidad actual (Loyless and Malone, 1997).

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