

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE PESQUERIA



“EFECTO DE LA DENSIDAD DE CARGA SOBRE EL CRECIMIENTO Y
SUPERVIVENCIA DE ALEVINES DE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)
APLICANDO TECNOLOGÍA BIOFLOC”

Presentado por:

JORGE ANDRÉ RAMOS HERENCIA

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO PESQUERO

Lima- Perú

2017

INDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN LITERARIA	4
2.1	ASPECTOS GENERALES SOBRE TILAPIA	4
2.1.1	DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA DE LA ESPECIE EN ESTUDIO:	4
2.1.2	ASPECTOS BIOLÓGICOS DE LA TILAPIA	4
2.1.3	REQUERIMIENTOS DE CALIDAD DE AGUA PARA EL CULTIVO DE TILAPIA.....	5
2.2	TECNOLOGÍA BIOFLOC (BTF).	6
2.2.1	CONTROL DE NITRÓGENO INORGÁNICO.....	7
2.2.2	PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA EN LOS SISTEMAS BIOFLOC ...	8
2.2.3	MANEJO DEL SISTEMA BIOFLOC.....	10
2.3	SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DURANTE LA FASE DE INVERSIÓN SEXUAL.....	11
2.3.1	INVERSIÓN SEXUAL.....	11
2.3.2	PREPARACIÓN DEL ALIMENTO HORMONADO.....	12
2.3.3	TASA DE ALIMENTACIÓN Y FRECUENCIA DE ALIMENTACIÓN.....	13
2.3.4	INFLUENCIA DE LA DENSIDAD EN EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DURANTE LA INVERSIÓN SEXUAL.....	13
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1	LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN	9
3.2	ETAPA PRE EXPERIMENTAL	9
3.2.1	ACONDICIONAMIENTO DE LOS BIOREACTORES.....	9
3.2.2	ADICIÓN DE MELAZA A LOS BIOREACTORES Y A LAS UNIDADES EXPERIMENTALES	10
3.2.3	PREPARACIÓN DEL ALIMENTO HORMONADO.....	18
3.2.4	OBTENCIÓN DE ALEVINES DE TILAPIA.....	18
3.3	ETAPA EXPERIMENTAL.....	19
3.3.1	IMPLEMENTACIÓN DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES	19
3.3.2	SIEMBRA DE ALEVINES EN LAS UNIDADES EXPERIMENTALES.....	19
3.3.3	MONITOREO DE LA CALIDAD DE AGUA	21

3.3.4 AJUSTE DE ALCALINIDAD.....	21
3.3.5 CONTROL DE SÓLIDOS SEDIMENTABLES.....	22
3.3.6 MANEJO DE LA ALIMENTACIÓN	23
3.3.7 CONTROL DEL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA.....	24
3.3.8 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1 CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE LOS ALEVINES DURANTE LA INVERSIÓN SEXUAL.....	28
4.1.1 EFECTO DE LA DENSIDAD SOBRE EL CRECIMIENTO	29
4.1.2 EFECTO DEL DESDOBLE SOBRE EL CRECIMIENTO	32
4.1.3 EFECTO DE LA DENSIDAD SOBRE LA SUPERVIVENCIA	37
4.1.4 EFECTO DEL DESDOBLE SOBRE LA SUPERVIVENCIA	38
4.2 PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA	42
4.2.1 RESULTADOS DE LA MEDICIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA. 42	
4.2.2 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ESTADÍSTICAS A LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA.....	49
V. CONCLUSIONES	54
VI. RECOMENDACIONES	55
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
VIII. ANEXOS	64

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Requerimiento de calidad de agua para el cultivo de tilapia.....	5
Tabla 2: Peso final y supervivencia de alevines de tilapia al finalizar la inversión sexual realizada por diferentes autores. (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	7
Tabla 3: Característica del agua utilizada al inicio del experimento.....	10
Tabla 4: Distribución de los alevines en las unidades experimentales.....	20
Tabla 5: Equipos y frecuencia de medición de parámetros físicos y químicos.....	21
Tabla 6: Dosis de Bicarbonato de sodio (g) añadido para corregir la alcalinidad.....	22
Tabla 7: Parametros de crecimiento y supervivencia promedio de alevines de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) de los diferentes tratamientos al finalizar el periodo de inversión sexual.....	28
Tabla 8: Resultados de ANOVA para la variable crecimiento en la etapa de inversión sexual.....	36
Tabla 9: Resultados de ANOVA para la variable supervivencia de los tratamientos que mantuvieron su densidad inicial en la etapa de inversión sexual.....	40
Tabla 10: Resultados de los parámetros de calidad de agua evaluados en esta investigación.....	42
Tabla 11: Resultados de la evaluación estadística (ANOVA) para los parámetros de calidad de agua evaluados.....	50
Tabla 12: Resultados de la prueba de Tukey para los parámetros que presentaron diferencias significativas en la prueba ANOVA.....	51

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Descripción de las unidades experimentales.	19
Figura 2: Proceso de aclimatación de alevines de tilapia antes de ser introducidos a las unidades experimentales.....	20
Figura 3: Secuencia de manejo de los sólidos sedimentables.	23
Figura 4: Proceso de alimentación de alevines.	24
Figura 5: Medición individual de talla total de los alevines.....	25
Figura 6: Medición del peso (g) de los alevines.....	26
Figura 7: Promedios de la tasa de crecimiento específico (%) en los tratamientos estudiados durante la inversión sexual.	30
Figura 8: Promedios de tasa de crecimiento específico (%) por periodos en los tratamientos estudiados durante la inversión sexual.	31
Figura 9: Curva de crecimiento (g) de los diferentes tratamientos durante la etapa experimental.	32
Figura 10: Tasa de crecimiento promedio (%) de los tratamientos que tuvieron densidad de carga inicial de 4000 alevines. m^{-3}) por periodos durante la inversión sexual.....	33
Figura 11: Tasa de crecimiento promedio (%) de los tratamientos que tuvieron densidad de carga inicial de 6000 alevines. m^{-3}) por periodos durante la inversión sexual.....	34
Figura 12: Coeficiente de variación de la longitud final de los diferentes tratamientos estudiados.	35
Figura 13: Porcentaje de supervivencia promedio (%) de los tratamientos estudiados durante la inversión sexual.	37
Figura 14: porcentaje de supervivencia promedio (%) por periodos de los tratamientos estudiados durante la inversión sexual.	38
Figura 15: Porcentaje de supervivencia promedio (%) de los tratamientos que tuvieron densidad de carga inicial de 4000 alevines. m^{-3}) por periodos durante la inversión sexual.....	39

Figura 16: Porcentaje de supervivencia promedio (%) de los tratamientos que tuvieron densidad de carga inicial de 6000 alevines. m^{-3}) por periodos durante la inversión sexual.....	40
Figura 17: Variación de la temperatura promedio ($^{\circ}C$) por tratamiento.	43
Figura 18: Variación diaria de oxígeno disuelto promedio ($mg. L^{-1}$) por tratamiento..	44
Figura 19: Variación del porcentaje de saturación de oxígeno promedio (%) por tratamiento.....	45
Figura 20: Variación diaria del potencial de hidrógeno promedio por tratamiento. ...	46
Figura 21: Variación de alcalinidad promedio ($mg. L^{-1}$) por tratamiento.	47
Figura 22: Variación de sólidos sedimentables promedio (ml) por tratamiento.	47

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Resultados de ANOVA para el parámetro oxígeno disuelto.	64
ANEXO 2: Resultados de ANOVA para el parámetro temperatura.....	66
ANEXO 3: Resultados de ANOVA y de la prueba de Tukey para el parámetro potencial de hidrógeno.	68
ANEXO 4: Resultados de ANOVA y de la prueba de Tukey para el parámetro alcalinidad.....	72
ANEXO 5: Resultados de ANOVA y de la prueba de Tukey para el parámetro sólidos sedimentables.	75
ANEXO 6: Resultados de ANOVA para el parámetro nitrógeno amoniacal total.	78
ANEXO 7: Resultados de ANOVA para el parámetro nitrito (N-NO ₂).	80
ANEXO 8: Resultados de ANOVA para el parámetro nitrato (N-NO ₃).....	82
ANEXO 9: Resultados de ANOVA y la prueba de Tukey para la variable Crecimiento...	84
ANEXO 10: Resultados de ANOVA y la prueba de Tukey para la variable sobrevivencia.	85

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la densidad de carga sobre el crecimiento y supervivencia de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*) que fueron sometidos a una inversión sexual aplicando tecnología biofloc en su cultivo. Para determinar el efecto se aplicó cinco tratamientos que se diferenciaban en sus densidades de carga iniciales o en el “desdoble” (modificación de la densidad de carga inicial a partir de la segunda semana del tratamiento hormonal) que se les aplicaba. Los tratamientos que se diferenciaban por la densidad de carga inicial fueron D1SD (3000 alevines. m^{-3}), D2SD (4000 alevines. m^{-3}) y D3SD (6000 alevines. m^{-3}), los tratamientos a los que se les aplicó el desdoble fueron D2CD (de 4000 a 3000 alevines. m^{-3}), y D3CD (de 6000 a 4000 alevines. m^{-3}). La investigación fue realizada en acuarios con capacidad de 60 litros y se utilizó biofloc proveniente de biorreactores ya estabilizados. Durante la experimentación se mantuvieron los niveles adecuados para el cultivo de tilapia y el sistema biofloc de oxígeno disuelto ($6,98 \pm 0,22 \text{ mg.L}^{-1}$), pH ($8,40 \pm 0,12$), temperatura ($28,11 \pm 0,91 \text{ }^{\circ}\text{C}$), alcalinidad ($70 - 150 \text{ mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$) y los sólidos sedimentables aumentaron considerablemente a lo largo del estudio, aunque siempre estuvieron por debajo de los 70 ml. L^{-1} . Los nitritos (N-NO₂), nitratos (N-NO₃) y NAT; $0,03 \text{ mg.L}^{-1}$, $50,29 \text{ mg.L}^{-1}$ y $0,62 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente, se mantuvieron estables y en concentraciones que no afectaron a los alevines. Sólo se presentaron diferencias significativas en las concentraciones de pH, alcalinidad y sólidos sedimentables. El tratamiento que logró el mayor crecimiento fue D1SD (0,202 g) y el que obtuvo la mayor supervivencia fue D2SD (90,2 por ciento). No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento y la supervivencia. El desdoble resultó generar un mayor crecimiento en los alevines de tilapia, pero no necesariamente una mayor supervivencia.

Palabras Claves: densidad de carga, tecnología Biofloc, *Oreochromis niloticus*.

ABSTRACT

The objective of scientific research is the effect of the charge density on the growth and survival of tilapia fry (*Oreochromis niloticus*) which was subjected to sexual inversion by applying biofloc technology in its culture. To determine the effect, five treatments are applied which differ in their initial loading densities in the "desdoble" (modification of the initial loading density from the second week of hormone treatment) applied. The treatments that differed by the initial charge density were D1SD (3000 fry. m^{-3}), D2SD (4000 fry. m^{-3}) y D3SD (6000 fry. m^{-3}). The treatments to which they apply the "desdoble" were D2CD (from 4000 to 3000 fry. m^{-3}), and D3CD (from 6000 to 4000 fry. m^{-3}). The research was carried out in aquariums with capacity of 60 liters and was used biofloc from bioreactors and stabilized. During the experiment, adequate levels of tilapia and dissolved oxygen biofloc system ($6,98 \pm 0,22 \text{ mg.L}^{-1}$), pH ($8,40 \pm 0,12$), temperature ($28.11 \pm 0.91 \text{ }^\circ \text{C}$), alkalinity ($70 - 150 \text{ mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$) and the sedimented solids increased considerably throughout the study, although they were always below 70 ml. L^{-1} . Nitrites (N-NO₂), nitrates (N-NO₃) and NAT; $0,03 \text{ mg.L}^{-1}$, $50,29 \text{ mg.L}^{-1}$ y $0,62 \text{ mg.L}^{-1}$ respectively, were stable and at concentrations that did not affect the fry. There are only significant differences in pH, alkalinity and sedimentable solids concentrations. The treatment that achieved the greatest growth was D1SD (0.202 g) and the one with the highest survival was D2SD (90.2 percent). No significant differences were found in growth and survival. The "desdoble" resulted in greater growth in tilapia fry, but not necessarily greater survival.

Keywords: density of load, Biofloc technology, *Oreochromis niloticus*.

I. INTRODUCCIÓN

Con más de siete mil millones de personas en la tierra, la demanda de alimentos de origen acuático continúa aumentando y, por tanto, la expansión e intensificación de la producción acuícola es altamente necesarias.

Según perspectivas para el año 2020 del modelo pesquero de la FAO (2014), el Fenómeno El Niño reducirá las capturas en América del Sur, especialmente de anchoveta. El aumento general de la oferta de peces provendrá principalmente de la acuicultura, que alcanzará los 85 millones de toneladas en 2022, lo que supone un aumento del 35 por ciento en el periodo 2013 – 2022. No obstante, se estima que su crecimiento anual de producción registrará un promedio del 2,5 por ciento en 2013-2022, frente al 6,1 por ciento de 2003-2012. Las principales causas de este menor ritmo de crecimiento serán la escasez de agua dulce, la menor disponibilidad de lugares óptimos para la producción y los elevados costos de la harina y el aceite de pescado, así como de otros piensos (aproximadamente el 50 por ciento de la acuicultura mundial depende de piensos externos).

Es por estas razones la importancia de investigar otros sistemas de cultivo como el biofloc, el cuál comparado a las tecnologías de tratamiento de agua convencionales utilizados en la acuicultura, ofrece una alternativa de menor consumo de agua, y adicionalmente, una ganancia potencial sobre los gastos de alimentación (utilización de piensos con un menor porcentaje de proteína). Siendo una opción sostenible para el desarrollo futuro de la acuicultura (Avnimelech 2009), importante en zonas con escaso abastecimiento de agua como puede ser la costa peruana.

El biofloc es un sistema de producción nuevo, consiste en el desarrollo de flóculos microbianos formados a partir de una alta relación carbono : nitrógeno en el agua, con poco o nulo recambio y alta oxigenación (Emerenciano *et al.* 2013), en el cuál se utilizan dietas con bajo contenido de proteína cruda (Azim y Litle 2008), fuentes de carbono externo tales como melaza (caña de azúcar) salvado de arroz, salvado de trigo,

entre otros (Emerenciano *et al.* 2012), lo que permite el crecimiento de una comunidad microbiana, sobretodo de bacterias heterótrofas, que metabolizan los carbohidratos y toman nitrógeno inorgánico (principalmente NH_4), reduciendo sus niveles y mejorando la calidad del agua (Crab *et al.* 2009). Este tratamiento químico que los flocs realizan permite una acuicultura con bajo consumo de agua.

El grupo de peces tilapia es el más cultivado en el mundo y en América Latina y el Caribe es el tercero de mayor importancia. El Ministerio de la Producción del Perú en el Programa Nacional de Ciencia, Desarrollo tecnológico e Innovación en Acuicultura (C+DT+i) 2013-2021, analiza las líneas de acción prioritarias para la investigación, la transferencia y la innovación tecnológica para la acuicultura e indica que las principales actividades a realizar en el cultivo de tilapia son: producir semilla mejorada de óptima calidad y en cantidades suficientes, mejorar la productividad en cultivos de tilapia con prácticas ambientalmente sostenibles y reutilizar efluentes del cultivo.

La tecnología biofloc está alineada al C+DT+i 2013-2021, ya que permite un uso adecuado de las instalaciones aumentando la productividad, controla efluentes y es ambientalmente sostenible (menor consumo de agua, menor porcentaje de proteína en los piensos y degradación de la hormona utilizada en la inversión sexual por lo que no se libera al medio ambiente)

La tilapia es una especie gonocórica indiferenciada, lo que significa que el tejido gonadal de la larva al momento de eclosionar, no está diferenciado (Ruiz, 1984). Este período de indiferenciación en la morfogénesis, que va hasta los 15 días después de la eclosión, ha permitido el empleo de técnicas de inducción hormonal para inversión fenotípica del sexo mediante el empleo de hormonas masculinizantes (Hepher y Pruginin 1991), las cuales se mezclan con el alimento balanceado que se suministra a las larvas durante aproximadamente treinta días a partir del tercer día post-eclosión o cuando finaliza la reabsorción del vitelo.

Uno de los factores más importantes en la etapa de inversión sexual es el manejo de densidades, altas densidades pueden incrementar la mortalidad y afectar el crecimiento. Por lo tanto, es de suma importancia definir las densidades que disminuyan estos efectos y permitan obtener un mayor rendimiento y el uso más eficiente de las instalaciones de producción. En comunicaciones personales Malpartida (2015) indica que en Brasil algunos centros de producción de alevines realizan la inversión sexual en

dos fases, la primera con densidades más altas que la segunda; en este trabajo se quiere documentar los efectos de este manejo de densidades y se utilizará el término desdoble para referirse a ello.

Trabajos previos en la producción de alevines machos de tilapia fueron realizados en sistemas de tecnología biofloc con densidades bajas (Ramírez 2015), demostrando la eficiencia de la inversión sexual en este sistema.

El objetivo general del presente estudio es determinar el efecto de la densidad en el crecimiento y supervivencia de alevines de tilapia en la etapa de inversión sexual con tecnología biofloc. Y los objetivos específicos son:

- Determinar la densidad inicial donde se obtiene mayor crecimiento en la etapa de inversión sexual con tecnología biofloc.
- Determinar la densidad inicial donde se obtiene mayor porcentaje de supervivencia en la etapa de inversión sexual con tecnología biofloc.
- Determinar el efecto del manejo de densidades (si los tratamientos que son desdoblados obtienen mayor crecimiento y supervivencia que los tratamientos en los cuales se mantuvo la densidad inicial)

- Malpartida, J. (2015). Inversión sexual de tilapia (comunicación personal). Brasil

II. REVISIÓN DE LITERARIA

2.1 ASPECTOS GENERALES SOBRE TILAPIA

2.1.1 DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA DE LA ESPECIE EN ESTUDIO:

Phylum:	Vertebrata
Sub Phylum:	Craneata
Superclase:	Gnostomata
Serie:	Piscis
Clase:	Teleostei
Subclase:	Actinoptergii
Orden:	Perciformes
Suborden:	Percoidei
Familia:	Cichlidae
Género:	Oreochromis
Especie:	<i>Oreochromis niloticus</i>

2.1.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS DE LA TILAPIA

Tiene una tendencia hacia hábitos alimenticios omnívoros, aceptan fácilmente alimentos elaborados artificialmente. Para reproducirse necesitan temperaturas superiores a los 20°C. el número de huevos por desove, como el tamaño de los huevos es proporcional al peso corporal de la hembra. La hembra de la especie *Oreochromis niloticus* incuba sus huevos y los cría en la boca, los machos permanecen en el área de nidación, delimitando y protegiendo su territorio. (FONDEPES 2004).

El periodo de alevinaje inicia desde la eclosión hasta los 90 días post eclosión, comprende las fases de cultivo de inversión sexual y pre-cría, alcanzando pesos finales de 15g aproximadamente. (Orozco 1998).

2.1.3 REQUERIMIENTOS DE CALIDAD DE AGUA PARA EL CULTIVO DE TILAPIA

En la tabla 1 podemos observar los requerimientos de calidad de agua necesarios para el cultivo de tilapia.

Tabla 1: Requerimiento de calidad de agua para el cultivo de tilapia

Parámetro	Requerimiento para tilapia	Fuente
Temperatura	Los rangos óptimos de temperatura oscilan entre 20 a 30°C, pueden soportar temperaturas menores a 15°C donde inhiben su crecimiento, la reproducción se da con éxito a temperaturas entre 26° a 29°C. Los límites superiores de tolerancia oscilan entre 37 y 42°C	Saavedra (2006)
Oxígeno Disuelto	La tilapia soporta bajas concentraciones, aproximadamente 1 mg.L ⁻¹ , e incluso valores menores en períodos. A menor concentración de oxígeno el consumo de alimento disminuye, por consiguiente, el crecimiento de los peces. Lo más conveniente son valores mayores de 2 ó 3 mg.L ⁻¹ , particularmente en ausencia de luz.	Martínez (2006)
Dióxido de carbono	El dióxido de carbono (CO ₂) es producto principalmente del proceso de la respiración animal y vegetal, es un gas altamente soluble en agua, está en función de la actividad biológica. Su concentración depende de la fotosíntesis. En la noche se encuentran mayores concentraciones de este gas, en los estanques. Debe mantenerse por debajo de 20 mg.L ⁻¹ , porque cuando sobrepasa este valor se presenta letargia e inapetencia.	FONDEPES (2004)

<<Continuación >>

Potencial de hidrógeno (pH)	Los valores óptimos de pH son entre 7 y 8. No pueden tolerar valores menores de 5, pero sí pueden resistir valores alcalinos de 11.	FONDEPES (2004)
Compuestos nitrogenados	Las tilapias empiezan a morir cuando las concentraciones de amoníaco (NH ₃ -N) alcanzan valores de 2 mg.L ⁻¹ y las concentraciones de nitritos (N-NO ₂) sobrepasan los 5 mg.L ⁻¹ .	Rakocy citado por Poleo <i>et al.</i> 2011

2.2 TECNOLOGÍA BIOFLOC (BTF)

El biofloc es una comunidad constituida de microorganismos asociados entre sí en un sustrato suspendido o flotante que responde a una dinámica de malla trófica que se inicia en heterótrofos capaces de fijar carbono desde las sustancias y partículas orgánicas en el agua y cuya densidad se sitúa entre 10 y 1000 millones de células microbianas.m⁻³ (Burford *et al.* 2004). La comunidad de biofloc es de forma irregular, deformable, porosa, de tamaño indefinido (desde pocas micras hasta varios centímetros de diámetro), y más denso que el agua por lo que tienden a sedimentarse lentamente (Avnimelech 2006).

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

La formación de nitrógeno inorgánico en los sistemas biofloc puede ser controlado por la manipulación de la relación C/N orgánico como una forma de promover el crecimiento de las bacterias heterotróficas (Avnimelech 1999).

El nitrógeno (N) puede estar presente en los ambientes acuáticos en formas de nitrato (N-NO₃), nitrito (N-NO₂), amonio ionizado (NH₄⁺), amonio no ionizado (NH₃), óxido nitroso (N₂O), óxido nítrico (NO), nitrógeno molecular (N₂), nitrógeno orgánico disuelto (péptidos, purinas, aminas, aminoácidos) y como nitrógeno orgánico particulado (Hernández y Vargas 2003), de todas estas formas de nitrógeno, los nitratos y el amonio son los más importantes para los ecosistemas acuáticos, por cuanto constituyen la fuente principal de nitrógeno biodisponible para la generación de cadenas tróficas, siendo que el amonio y el nitrito son tóxicos para los peces y se convierten en un factor limitante para el crecimiento y sobrevivencia de estos en cultivo, así removerlo o transformarlo en nitrógeno no tóxico es esencial cuando se pretende aumentar la biomasa del sistema y disminuir los riesgos (Avnimelech 2009, Hargreaves 1998).

Los alimentos que son suministrados en acuicultura tienen niveles de proteína que oscilan entre el 20 y 45 por ciento, del cual aproximadamente el 16 por ciento es nitrógeno (Craig y Helfrich 2002), el 75 por ciento del nitrógeno es aportado al medio de cultivo por excreción y alimento no consumido (Craig *et al.* 2012, Avnimelech 2009 y Hargreaves 1998). El metabolismo del alimento ingerido termina con la formación de amonio ionizado y no ionizado que es excretado principalmente por las branquias al agua, la suma de estas formas de amonio NH₄⁺ + NH₃ se le denomina nitrógeno amoniacal total (NAT), en cultivos de peces la forma no ionizada NH₃ es altamente tóxica y la concentración letal varía entre especies en un rango de 1 - 2 mg.L⁻¹, agudizándose cuando la concentración de oxígeno es baja (Avnimelech 2009), el aumento del amonio no ionizado depende también del aumento del pH, de la temperatura y de la salinidad (Ebeling *et al.* 2006 y Timmons *et al.* 2002).

2.2.1 CONTROL DE NITRÓGENO INORGÁNICO

a. Asimilación bacteriana

Mediante la asimilación bacteriana, el amoniaco es inmovilizado al ser conservado en las células bacterianas como proteínas. Sin embargo, esto es temporal debido a que las células bacterianas al descomponerse liberan nitrógeno como amoniaco. Las células también son consumidas por los peces o eliminados como exceso de sólidos (Hargreaves 2013).

Debido a que la tasa de crecimiento y rendimiento de la biomasa microbiana heterotrófica por unidad de sustrato es un factor 10 veces más alto que el de las bacterias nitrificantes, la inmovilización heterotrófica se lleva a cabo mucho más rápido que la conversión de las nitrificantes (Hargreaves 2006).

b. Nitrificación

Según Ebeling *et al.* (2006) los procesos bacterianos transforman la forma tóxica del nitrógeno a una que solo es tóxica en altas concentraciones (nitrato). En el tiempo, el nitrato se acumula en sistemas biofloc debido a que no se realiza ningún recambio de agua, sólo se cubren las pérdidas por evaporación (Carbó y Celades 2012).

En contraste al rápido ciclado de amoníaco disuelto, entre algas o células de las bacterias, la nitrificación es responsable a largo plazo del último destino de una gran fracción del nitrógeno (25 a 50 por ciento) del alimento agregado a los sistemas de biofloc intensivo. Este mecanismo se convierte relativamente más importante a medida que la intensidad de la producción aumenta, tal como se mide por la tasa de alimentación diaria (Hargreaves 2013).

c. Captación algal

En sistemas biofloc la asimilación de amoníaco por las microalgas es limitada por la sombra de los sólidos suspendidos en el agua. En sistemas expuestos a luz solar, la actividad de las algas es el mayor factor de control de calidad de agua, la fluctuación diaria en la concentración de oxígeno disuelto y pH, a pesar de la intensa aireación, es una de las características de los sistemas biofloc donde la actividad algal es predominante (Hargreaves 2013).

2.2.2 PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA EN LOS SISTEMAS BIOFLOC

El sistema biofloc demanda un cuidadoso control de la calidad del agua y una rápida respuesta a las anomalías que se presentan, cuando sean detectadas. Debido a que presenta una amplia biomasa y que cualquier falla no respondida, puede volverse crítica, se debe tener un especial cuidado de los siguientes parámetros:

a. Oxígeno disuelto:

El oxígeno debe ser mayor a 4 mg.L^{-1} (Avimelech *et al.* 2008). Según Valbuena y Cruz (2006) el oxígeno disuelto se debe mantener cerca a los 6 mg.L^{-1} con saturaciones mayores del 60 por ciento, considerando que existe una relación inversa entre el consumo de oxígeno y el peso corporal, así como un efecto positivo de la temperatura del agua sobre la tasa metabólica para tilapia.

b. Potencial de hidrógeno y la alcalinidad:

La actividad de las bacterias nitrificantes es responsable de la mayoría de pérdidas de alcalinidad en sistemas intensivos de biofloc. Con el tiempo, el ácido producido por la nitrificación agota las reservas de alcalinidad en el agua. Una vez que la alcalinidad es agotada, el pH puede descender abruptamente, inhibir la función bacteriana, incluyendo el de las importantes bacterias nitrificantes. En este caso, el amoníaco se acumula hasta el punto donde el apetito del pez y la respuesta alimenticia son reducidos. La alcalinidad debe ser mantenida entre 100 a 150 mg.L^{-1} como CaCO_3 (Hargreaves 2013).

Avnimelech (2009) considera que el pH y la alcalinidad en sistemas de producción con tecnología biofloc normalmente permanecen estables en el agua con rangos y valores de 7 – 9 y mayor a $50 \text{ mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$ respectivamente, existiendo una relación directa entre los procesos de nitrificación y la alcalinidad e inversos en relación con el pH, en este sentido cuando el pH es alto promueve toxicidad por amonio no ionizado. La temperatura del agua afecta al pH teniendo correlaciones positivas, es decir que mayor temperatura mayor pH y mayor amonio tóxico (Emerson *et al.* 1975).

c. Nitrógeno amoniacal total (NAT):

Un nivel de NAT bajo ($<0.5 \text{ mg.L}^{-1}$) significa que el sistema trabaja bien, se puede considerar una baja adición de carbono para estos casos. Si el NAT se incrementa, una solución rápida puede ser el incremento en la adición de carbono.

d. Nitritos (N- NO_2):

Los nitritos pueden afectar negativamente a la tilapia, aunque los efectos son limitados en agua salada, sin embargo, un incremento de nitritos puede ser indicador del crecimiento de zonas anaerobias o de nitrificación (Ebeling *et al.* 2006).

e. Sólidos:

La formación de sólidos suspendidos podría convertirse en el segundo factor limitante para incrementar los niveles de producción después del oxígeno disuelto (Ebeling *et al.* 2006).

Una concentración de sólidos de 200 a 500 mg.L⁻¹ es suficiente para el buen funcionamiento del sistema y control de amoníaco sin excesiva respiración en el agua. La concentración debe de ser lo suficientemente baja para proveer suficiente biofiltración y no tan alto que el requerimiento para aireación y poder de mezcla sea excesivo (Hargreaves 2013).

2.2.3 MANEJO DEL SISTEMA BIOFLOC

a. Fase de inicio

Durante la fase de inicio, los cambios en la calidad de agua en los sistemas biofloc son muy similares a los sistemas de recirculación convencionales (Avnimelech 2006). El inicio del sistema se caracteriza por retrasos en las concentraciones máximas de amoníaco y nitritos conforme las diferentes poblaciones bacterianas se desarrollan. Si la tasa de alimentación se incrementa rápidamente, las concentraciones de amoníaco y nitrito pueden incrementarse hasta el punto de volverse tóxicos y afectar el crecimiento de los peces, conversión alimenticia, resistencias a enfermedades o la supervivencia (Avnimelech 2012, Hargreaves 2013).

Los altos valores de amoníaco y nitritos pueden ser evitados o minimizados durante el inicio mediante la adición de carbohidratos (Avnimelech 1999).

b. Control de amonio en sistemas biofloc.

Una elevada densidad y con intercambio limitado de agua da lugar a una acumulación considerable de desechos, que comprende parte del alimento no consumido y las heces, así como otros residuos metabólicos incluyendo amoníaco excretado por los peces (Read y Fernandes 2003, Piedrahita 2003 y Sugiura *et al.* 2006). Incluso bajas concentraciones de amoníaco y nitrito son tóxicos para la mayoría especies acuícolas (Timmons *et al.* 2002). Por lo tanto, el control de amoníaco y nitrito en una concentración adecuada mientras se mantiene intercambio de agua mínimo es de vital importancia.

c. Balace de entrada en la relación C:N

En los sistemas biofloc, el principal parámetro que controla la concentración de amonio es la relación C:N en el alimento que ingresa al agua, Un alimento con 30 a 35 por ciento de proteína tiene una baja relación de C:N, alrededor de 9:1 a 10:1. Incrementándose el ratio C:N a niveles de 12:1 o 15:1 favorece el control de amonio vía heterotrófica.

Los bajos ratios de C:N pueden ser aumentados mediante la adición de insumos o productos que presenten altas relaciones de C:N. Otra forma puede ser incrementando el C:N reduciendo el nivel de proteína del alimento. La asimilación de amonio por las bacterias heterotróficas ocurre rápidamente tras la adición de carbohidratos. El control de amonio a través de la vía heterotrófica es más estable y más confiable que la asimilación algal o la nitrificación (Hargreaves 2013).

d. Aireación y circulación del agua:

Una intensiva y turbulenta circulación es un requerimiento esencial en los sistemas biofloc. Los sólidos deben estar suspendidos en la columna de agua todo el tiempo o el sistema biofloc no funcionará. Sin una circulación apropiada, los bioflocs van a sedimentar y pueden formar montículos que consumen rápidamente el oxígeno disuelto (Hargreaves 2013). Estas zonas anaeróbicas pueden llevar a la liberación de sulfuros de hidrógeno, metano y amonio que son tóxicos para los peces y crustáceos.

El agua en los sistemas biofloc tiene una elevada tasa de respiración debido a la alta concentración de sólidos suspendidos. La respiración del agua en tanques de biofloc tiene normalmente un consumo de $6 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ por hora. Es absolutamente esencial proveer suficiente aireación para mantener esta demanda de oxígeno dentro de los rangos seguros (Hargreaves 2013).

2.3 SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DURANTE LA FASE DE INVERSIÓN SEXUAL

2.3.1 INVERSIÓN SEXUAL

Este es uno de los métodos más usados, para la producción de alevinos machos de Tilapia. El incremento de la temperatura del agua en alevines de *Oreochromis niloticus* causa mejor ganancia de peso, tamaño y supervivencia. A 30 °C se obtiene las mejores tasas de

crecimiento y supervivencia en el proceso de inversión. Las temperaturas entre 26 y 32 °C no son capaces de causar inversión en tilapia nilotica, solo ocurre alteración en la proporción de sexos con la aplicación de hormona y la dosis de 40 mg es suficiente para obtener una población monosexo (Delarete *et al.* 2009).

Lo factores determinantes son: densidad, temperatura, presencia o ausencia de alimento vivo, dosis de hormona, tamaño momento de inicio y duración (Phelps y Popma 2000 y Manosroi *et al.* 2004), uniformidad de la hormona en el alimento (Yasui *et al.* 2007) y características genéticas de los individuos (Tachibana *et al.* 2004).

Los peces revertidos sexualmente, por mecanismos hormonales, presentan mayor tasa de crecimiento que sin tratamiento, por sus efectos androgénicos y anabólicos (Phelps y Popma 2000 y Macintosh 2008).

Ramírez (2015) realizó un estudio con el objetivo de lograr la masculinización de tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) utilizando tecnología biofloc, utilizó dos sistemas de cultivo uno con agua clara y otro con biofloc en ellos se mantuvieron los valores de temperatura y oxígeno semejantes en los tratamientos durante la etapa experimental, la identificación de gónadas dio como resultado que el 96 por ciento de los individuos fueron machos en ambos tratamientos.

2.3.2 PREPARACIÓN DEL ALIMENTO HORMONADO

La técnica para preparar alimento es la del alcohol evaporado usado por Nakamura (1975) y Guerrero (1976). Esta requiere de los siguientes pasos:

- Mezcla de la hormona con etanol al 95 por ciento.
- Tamaño de la partícula muy pequeña, de alimento para truchas o un alimento similar alto en proteínas y nutricionalmente completo; para mezclarlo completamente con igual volumen de la solución de la hormona. La distribución uniforme de la hormona asegura la mezcla total de la solución con el alimento.
- Secado completo del alimento, a temperatura de ambiente o en un horno a 30 – 50 °C.
- Refrigeración del alimento preparado.

2.3.3 TASA DE ALIMENTACIÓN Y FRECUENCIA DE ALIMENTACIÓN

La tasa de alimentación utilizada según Popma y Green (1990) es de 15 – 20 por ciento del peso corporal de los alevinos, dividiendo la ración de 2 a 4 veces $\cdot \text{día}^{-1}$ durante las horas diurnas, 7 días por semana, no notando efectos nocivos cuando un día de la semana suministraron la totalidad del alimento en una sola comida.

Es recomendable alimentar a las crías con un 10 a 12 por ciento del peso total de la biomasa, en tres o cuatro veces al día con la finalidad de mantener los niveles de esteroides en una proporción constante a lo largo del tratamiento, Shelton (1978). El mismo autor, comenta que cuando el crecimiento de las crías no es uniforme pueden encontrarse algunas diferencias en la respuesta a la inversión sexual. Cuando se alimenta en esta forma es necesario llevar un control de peso - longitud para hacer los cambios adecuados en la cantidad de alimento.

2.3.4 INFLUENCIA DE LA DENSIDAD EN EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DURANTE LA INVERSIÓN SEXUAL

El proceso de inversión produce estrés en las larvas y altos porcentajes de mortalidad, dado que se ven obligadas a consumir exclusivamente el alimento con la hormona evitándose al máximo el acceso a alimento vivo para que haya buenos índices de eficiencia en los resultados (Watanabe *et al.* 1977).

La densidad de la población es un factor importante que se relaciona con la sobrevivencia. Vera Cruz y Mair (1993) encontraron que el aumento de la densidad de la población reduce la sobrevivencia final de post-larvas de tilapia durante el proceso de inversión sexual en hapas, este autor reportó supervivencias de 92.2, 76,1 y 68.9 por ciento para densidades de 2000, 6000 y 10000 postlarvas por metro cúbico respectivamente.

Yousif (2002) afirma que el aumento del número de peces (densidad) afectará negativamente el crecimiento del pez. Breine *et al.* (1996) dijo que las interacciones sociales a través de la competencia para la alimentación y / o el espacio puede afectar negativamente el crecimiento de los peces. Las densidades de población más altas, por lo tanto, conducen a un aumento del estrés y resulta en el aumento de las necesidades de energía, causando una reducción en las tasas de crecimiento y utilización de los alimentos.

Osofero *et al.* (2009) realiza un estudio sobre los efectos de la densidad de siembra sobre el crecimiento y la supervivencia de *O. niloticus*, como resultados obtuvieron una relación inversa entre la tasa de supervivencia y la densidad de población.

La inversión sexual de alevines de tilapia (*O. niloticus*) ha sido estudiada por muchos autores con el fin de encontrar la manera más adecuada de realizarla, las variables estudiadas han sido densidades de carga, temperaturas, dosis de hormona en el alimento, frecuencia de alimentación, entre otros, (Tabla 2).

Tabla 2: Resultados de peso final y supervivencia de alevines (*Oreochromis niloticus*) de tilapia al finalizar la inversión sexual realizada por diferentes autores

Densidad de carga (alevines.m ⁻³)	Medio de cultivo	Peso Final (g)	Porcentaje de supervivencia (%)	Observaciones	Fuente
Dosis de hormona en el alimento:					Vera y Mair (1993)
2000	Hapa	0,101	75	Dieta con 40 mgMT	
2000	Hapa	0,147	92	Dieta con 60 mgMT	
5000	Tanque	0,083	71	Dieta con 40 mgMT	
6000	Hapa	0,065	76	Dieta con 60 mgMT	
10000	Hapa	0,042	69	Dieta con 60 mgMT	
Frecuencia de alimentación:					Ferrari y Hayashi (2001)
1000	Hapa	0,207	87	2 veces al día	
1000	Hapa	0,258	89	3 veces al día	
1000	Hapa	0,251	80	4 veces al día	
1000	Hapa	0,264	91	5 veces al día	
1000	Hapa	0,258	94	6 veces al día	
Temperatura y dosis de hormona:					Delarete <i>et al.</i> (2007)
400	Tanque	0,377	65	28 °C y 40 mgMT	
400	Tanque	0,34	68	28 °C y 60 mgMT	
400	Tanque	0,274	90	30 °C y 40 mgMT	
400	Tanque	0,295	85	30 °C y 60 mgMT	
Parámetros de cultivo:					Borrovich (2010)
2500	Tanque	0,17	57	Temperatura ambiental y sin aireación	
2500	Tanque	0,26	64	Temperatura alta y aireación	
Dosis de hormona en el alimento:					Phelps y Okoko (2011)
6600	Acuario	-	43	30 mgMT	
6600	Acuario	-	42	60 mgMT	
6600	Acuario	-	36	120 mgMT	

<<Continuación >>

Tasa de crecimiento específico:					Tetteh-Doku <i>et al.</i> (2013)
1000	Hapa	0,226	62.3	TCE: 11,1	
1500	Hapa	0,125	67.9	TCE:8,9	
2000	Hapa	0,08	53.3	TCE:7,4	
Tasa de crecimiento específico:					Ferdous <i>et al.</i> (2014)
1000	Hapa	0,33	90	TCE: 11,38	
1500	Hapa	0,23	85	TCE: 10,14	
2000	Hapa	0,16	79	TCE: 8,84	
Longitud (cm)					Ramirez (2015)
1000	Tanque	0,134	53	1,97	
1000	Biofloc	0,091	61	1,78	

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN

La presente investigación se realizó del 28 de setiembre del 2015 al 23 de enero del 2016, en el laboratorio de Acuicultura del Departamento de Acuicultura e Industrias Pesqueras de la Facultad de Pesquería de la Universidad Nacional Agraria la Molina situada en el distrito de La Molina – Perú.

3.2 ETAPA PRE EXPERIMENTAL

3.2.1 ACONDICIONAMIENTO DE LOS BIOREACTORES

Se implementaron tres bioreactores en tanques de 300 L, con un sistema de aireación constante y con ayuda de tres calentadores con termostatos de 300 watts c/u (uno por tanque), la temperatura se mantuvo entre 26 °C a 28 °C. El agua que se utilizó en los bioreactores fue agua de pozo con las características indicadas en la tabla 3, esta tuvo una alcalinidad de $80 \text{ mgCaCO}_3.L^{-1}$, un pH de 7,784 y una temperatura de 23 °C aproximadamente. Se sembraron tilapias juveniles con un peso promedio de 50 g y a una biomasa inicial de $2 \text{ kg}.m^3$ para desarrollar el sistema biofloc.

Las tilapias fueron alimentadas con un alimento comercial con 35 por ciento de proteína y a una tasa de alimentación del 3 por ciento de la biomasa hasta que se obtuvo la formación de los flóculos y la estabilización de los biorreactores, el biorreactor se consideró estabilizado cuando los niveles del NAT descendieron a valores menores a $1 \text{ mg}.L^{-1}$.

Tabla 3: Característica del agua de pozo utilizada al inicio del experimento

Parámetros de calidad de agua	Unidades	Valores
Temperatura	°C	23,5
Oxígeno disuelto	% Saturación	105
	mg.L ⁻¹	8,75
pH		7,05
C.E.	dS/m	4,80
Alcalinidad	mgCaCO ₃ . L ⁻¹	84,00
Calcio	mg. L ⁻¹	343
Magnesio	mg. L ⁻¹	71,13
Potasio	mg. L ⁻¹	34,41
Sodio	mg. L ⁻¹	615,02
Nitratos	mg. L ⁻¹	30,3
Carbonatos	mg. L ⁻¹	0,00
Bicarbonatos	mg. L ⁻¹	186,05
Sulfatos	mg. L ⁻¹	494,88
Cloruros	mg. L ⁻¹	1278
Dureza	mgCaCO ₃ . L ⁻¹	1149,38

FUENTE: Elaboración propia.

3.2.2 ADICIÓN DE MELAZA A LOS BIOREACTORES Y A LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Para lograr el balance adecuado que promueva el desarrollo de bioflocs en los bioreactores se utilizó la relación propuesta por Correia *et al.* (2014) de 7,5 ml de melaza diario (40 por ciento de carbono) por cada metro cúbico de agua durante 8 días o hasta que los valores de NAT estén debajo de 1 mg.L⁻¹.

También el mismo autor recomendó que si el valor del NAT se eleva a más 1 mg.L⁻¹ se debería añadir melaza en la relación carbono:NAT de 6:1, esta corrección no se llegó a aplicar debido a que los valores de NAT nunca estuvieron por encima de 1 mg.L⁻¹ en todo el experimento.

3.2.3 PREPARACIÓN DEL ALIMENTO HORMONADO

El alimento para la fase experimental fue preparado de acuerdo a Phelps y Popma (2000), se utilizó alimento peletizado comercial para truchas con 39 por ciento de proteína el cual fue triturado hasta obtener un diámetro de partícula entre 500 y 700 micras, el tamaño pequeño se utilizó en la alimentación de las dos primeras semanas y el segundo tamaño hasta terminar el experimento.

Se utilizó la hormona 17 alfa metiltestosterona en una dosis de 60 mg/kg de alimento disuelta en alcohol etílico, de uso medicinal con 96 grados, en una relación de 0,5 litros por cada kilogramo de alimento. El alimento hormonado fue almacenado en recipientes cerrados y refrigerado a 4°C hasta su uso.

3.2.4 OBTENCIÓN DE ALEVINES DE TILAPIA

Para la obtención de alevines de tilapia se implementó un estanque de reproductores (3m x 1m x 0,6m) el cual estuvo en un invernadero que le proporcionó una mayor temperatura que la temperatura de ambiente del Centro de investigación Piscícola (CINPIS) de la Facultad de Pesquería. Este fue llenado con agua de pozo y se realizó un recambio de agua parcial del 10 por ciento dos veces por semana.

En el estanque se introdujo hembras y machos (*Oreochromis niloticus*) en una relación de 2:1, las hembras provenían de un periodo de recuperación post desove; se utilizó alimento comercial que contenía 39 por ciento de proteína y se utilizó una tasa de alimentación del tres por ciento de la biomasa hasta observar la puesta e incubación. Una vez recolectados los alevines del estanque de reproducción fueron trasladados al laboratorio de acuicultura en tinas de 50 litros de capacidad, con la finalidad de poder contabilizarlos y realizar la primera biometría.

3.3 ETAPA EXPERIMENTAL

3.3.1 IMPLEMENTACIÓN DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Se implementaron 15 acuarios de vidrio con una capacidad de 60L, fueron limpiados y desinfectados y se instalaron piedras difusoras de 15 cm conectados por medio de una manguerilla al sistema de aireación, los lados laterales de los acuarios fueron cubiertos con plástico negro para dar sombra. Se instalaron calentadores con termostatos de 50W para mantener la temperatura en 28 °C.

Cada acuario fue llenado con 40 L de agua con biofloc proveniente de los bioreactores y fueron mantenidas a una temperatura y una aeración igual a las condiciones de los bioreactores. La información que fue rotulada en los acuarios correspondía al número de acuario (1), cantidad inicial de alevines (2) y tipo de tratamiento (3) como se observa en la figura 1.



Figura 1: Disposición de las unidades experimentales

3.3.2 SIEMBRA DE ALEVINES EN LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

En la etapa experimental se utilizaron 2760 alevines con una talla promedio de 9 milímetros, estos fueron aclimatados al sistema biofloc antes de ser distribuidos en los acuarios. La aclimatación consistió en agregar poco a poco agua de los biorreactores a los recipientes (envases de plástico) que contenían alevines con la cantidad adecuada para

cada unidad experimental durante un periodo aproximadamente de 30 minutos como se observa en la figura 2.



Figura 2: Proceso de aclimatación de alevines de tilapia antes de ser introducidos a las unidades experimentales

Los alevines fueron distribuidos en los acuarios como se muestra en la tabla N°4.

Tabla 4: Distribución de los alevines en las unidades experimentales según tratamiento

Acuario	Tratamiento	Densidad inicial (alevines. m^{-3})	Densidad final (alevines. m^{-3})	Número de alevines inicial
1	D2CD	4000	3000	160
2	D3CD	6000	4000	240
3	D3SD	6000	6000	240
4	D3CD	6000	4000	240
5	D1SD	3000	3000	120
6	D3SD	6000	6000	240
7	D2CD	4000	3000	160
8	D2SD	4000	4000	160
9	D3CD	6000	4000	240
10	D2SD	4000	4000	160
11	D1SD	3000	3000	120
12	D2CD	4000	3000	160
13	D1SD	3000	3000	120
14	D3SD	6000	6000	240
15	D2SD	4000	4000	160

3.3.3 MONITOREO DE LA CALIDAD DE AGUA

La calidad del agua fue evaluada mediante los parámetros descritos en la tabla N° 5.

Tabla 5: Equipos y frecuencia de medición de parámetros físicos y químicos.

Parámetro	Unidades	Frecuencia de medición	Equipo de medición o método
Temperatura y oxígeno disuelto	Temperatura: °C Oxígeno: $mg.L^{-1}$ y porcentaje de saturación	Diariamente a las 8:00 a.m., 11:00 a.m. y 3:00 p.m.	Oxymetro YSI 550A con sensor de temperatura
Potencial de hidrógeno (pH)	Sin unidades	Diariamente a las 8:00 a.m., 11:00 a.m. y 3:00 p.m.	Potenciómetro Oakton.
Alcalinidad Total	$mgCaCO_3.L^{-1}$	Semanalmente	Método de titulación ácido base APHA (1998)
Sólidos Sedimentables	$ml.L^{-1}$	Diariamente a las 3:00 p.m.	Cono Imhoff
Nitrógeno amoniacal total (NAT)	$mg.L^{-1}$	Semanalmente	Método HACH 8038 (método Nessler). La absorbancia será medida en 655 nm.
Nitritos (N-NO ₂)	$mg.L^{-1}$	Semanalmente	Método HACH 8507 (diazotización). La absorbancia será medida en 507 nm.
Nitratos (N-NO ₃)	$mg.L^{-1}$	Semanalmente	Método HACH 8039 (Reducción de Cadmio). La absorbancia será medida en 500 nm.

FUENTE: Elaboración propia.

3.3.4 AJUSTE DE ALCALINIDAD

Se añadió bicarbonato de sodio comercial después de la medida de alcalinidad con el fin de mantener una alcalinidad de $150 mg CaCO_3.L^{-1}$ para un correcto funcionamiento del sistema biofloc que con el tiempo tiende a perder su capacidad buffer (Azim *et al.* 2008). Esta adición se realizó utilizando como referencia la tabla N°6 propuesto por Loyles y Malone (1997).

Tabla 6: Dosis de Bicarbonato de sodio (g) añadido para corregir la alcalinidad.

Volumen del sistema		Dosificación de Bicarbonato de Sodio - NaHCO ₃ (g)										
(Galones)	(Litros)	Incremento de alcalinidad (mg CaCO ₃ /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

FUENTE: Loyless y Malone, 1997

3.3.5 CONTROL DE SÓLIDOS SEDIMENTABLES

Cuando los sólidos sedimentables fueron mayores a 20 ml.L^{-1} , se extrajo 15 litros de agua de biofloc de los acuarios y se dejó reposar por 15 minutos y así lograr la sedimentación de los sólidos, pasado ese tiempo el agua fue regresada a los acuarios y los sólidos sedimentados fueron desechados.

Cómo se observa en la figura N°3, se hizo reposar el agua del biofloc en bandejas (1) y (2), una vez que los sólidos han sedimentado, el agua es regresada a los acuarios poco a poco (3) y (4), los sólidos que se sedimentaron son desechados (5).

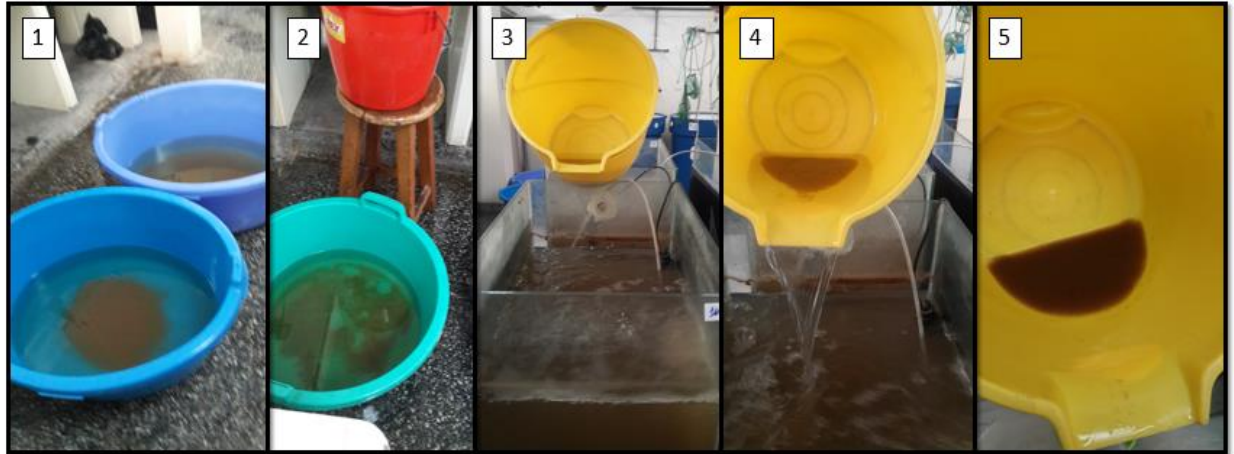


Figura 3: Secuencia del manejo de los sólidos sedimentables

3.3.6 MANEJO DE LA ALIMENTACIÓN

Durante la fase experimental los alevinos fueron alimentados con una tasa del 25 por ciento durante las dos primeras semanas, 20 por ciento la tercera semana y 15 por ciento de la biomasa /día en la última semana de tratamiento según Popma y Green. (1990). El alimento fue distribuido en cinco raciones/día durante las dos primeras semanas y cuatro raciones en la tercera y cuarta semana, cuyos horarios de alimentación fueron 08:00, 10:00, 12:00, 14:00 y 16:00 horas.

Como se observa en la figura N°4, debido a la alta turbulencia y la poca visibilidad del sistema biofloc, al momento de alimentar a los alevines se cerraba el paso de aire para suministrar el alimento (1), transcurrido tres minutos aproximadamente cuando se observaba que los alevines descendían hacia la mitad del acuario, se abría el paso de aire permitiendo el flujo con un caudal mínimo para evitar que la falta de oxígeno afecte la alimentación (2). Después de cinco minutos aproximadamente y observando que los alevines ya no se alimentaban se regresaba el flujo de aire a un nivel de caudal adecuado para el sistema biofloc (3).

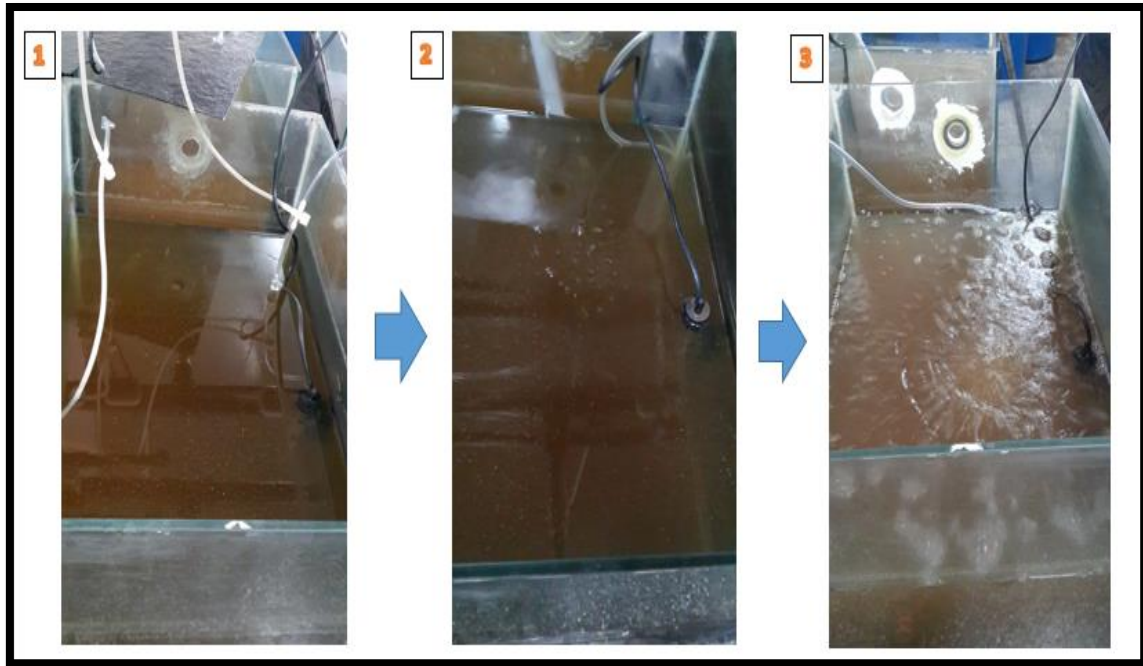


Figura 4: Proceso de alimentación de los alevines

3.3.7 CONTROL DEL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA

El control de crecimiento y supervivencia se realizó mediante biometrías semanales con un tamaño de muestra del 10 por ciento de la población de cada unidad experimental según Murray y Larry (2009), de esta muestra se tomó la longitud individual y el peso utilizando una regla milimetrada y una balanza analítica. Estas biometrías sirvieron para ajustar la tasa de alimentación y para tener un registro semanal del peso y longitud promedio.

Los alevines a los cuales se les iban a realizar la biometría fueron colocados en envases de plástico de un litro de capacidad y rotulados según el acuario de procedencia de los alevines.

Finalizando la segunda semana se contó todos los alevines de las unidades experimentales y se realizó el desdoble a los acuarios que pertenecían a los tratamientos T4(D2CD) y T5(D3CD).

Luego de 28 días al finalizar el periodo de inversión sexual se realizó la biometría final a todos los alevines de las unidades experimentales, se midió la talla individualmente y se tomó el peso en grupos de máximos de 5 alevines como se observan en las figuras 5 y 6.

Para obtener el incremento de peso y el porcentaje de supervivencia se utilizó las siguientes fórmulas:

$$\text{Incremento de peso (g)} = \text{peso promedio final(g)} - \text{peso promedio inicial(g)}$$

(Cruz-Casallas *et al.* 2010)

$$\text{Porcentaje de supervivencia (\%)} = (\text{N}^\circ \text{ de alevines final} \times 100) / \text{N}^\circ \text{ de alevines inicial.}$$

(Poleo *et al.* 2011)

$$\text{Tasa de crecimiento específico (\% .d}^{-1}\text{)} = (\text{Ln}W_1 - \text{Ln}W_0) * 100 / t$$

(Ricker 1979)

Donde:

- Ln: Logaritmo neperiano

-W₀: Peso inicial

-W₁: Peso final

-t: tiempo en días



Figura: Medición individual de talla total de los alevines



Figura 5: Medición del peso (g) de los alevines

3.3.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con 5 tratamientos y tres repeticiones cada uno descritos de la siguiente forma:

Tratamiento 1 (D1SD): densidad de 3000 alevines. m^{-3} durante las cuatro semanas de inversión sexual.

Tratamiento 2 (D2SD): densidad de 4000 alevines. m^{-3} durante las cuatro semanas de inversión sexual.

Tratamiento 3 (D3SD): densidad de 6000 alevines/ m^{-3} durante las cuatro semanas de inversión sexual.

Tratamiento 4 (D2CD): densidad de 4000 alevines/ m^{-3} durante las dos primeras semanas del tratamiento y desdoblada a 3000 alevines/ m^{-3} durante las dos últimas semanas.

Tratamiento 5 (D3CD): densidad de 4000 alevines/ m^{-3} durante las dos primeras semanas

Los tratamientos y repeticiones fueron distribuidos al azar en los 15 acuarios seleccionados para la realización de la experimentación.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.2, con el que realizó el ANOVA para detectar diferencias ($P < 0,05$) en el crecimiento de los alevines en todos los tratamientos, previo a esto se realizó una prueba de normalidad de datos y posteriormente se realizó la prueba de Tukey para observar las posibles diferencias entre tratamientos. Estos análisis estadísticos también fueron aplicados a los parámetros de calidad de agua utilizando los valores promedio semanales.

La supervivencia fue analizada en los tratamientos T1(D1SD), T2 (D2SD) y T3 (D3SD) (tratamientos sin desdobles), como los valores de supervivencia están en porcentaje se utilizó la función arcoseno para transformarlos y así poder utilizar el ANOVA y la prueba de Tukey.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE LOS ALEVINES DURANTE LA INVERSIÓN SEXUAL

En la tabla N°7 se presentan los resultados obtenidos al finalizar el periodo experimental para cada uno de los tratamientos que fueron evaluados. Se incluye valores promedio iniciales y finales.

Tabla 7: Parámetros de crecimiento y supervivencia promedio de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*) de los diferentes tratamientos al finalizar el periodo de inversión sexual

Parámetros	T1 (D1SD)	T2 (D2SD)	T3 (D3SD)	T4 * (D2CD)	T5 * (D3CD)
Densidad de carga (alevines. m^{-3})	3000	4000	6000	De 4000 a 3000	De 6000 a 4000
Peso promedio inicial (g)	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
Peso promedio final (g)	0,216	0,193	0,144	0,202	0,17
Incremento de peso (g)	0,202	0,179	0,13	0,188	0,156
Biomasa promedio inicial (kg. m^{-3})	0,042	0,056	0,084	0,056	0,084
Biomasa promedio final (kg. m^{-3})	0,648	0,772	0,864	0,606	0,680
Incremento de biomasa (kg)	0,606	0,716	0,780	0,550	0,596
Tasa de Crecimiento específico (%)	9,70	9,31	9,46	8,33	8,87
Longitud inicial (cm)	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Longitud final (cm)	2,2	2,19	2,03	2,19	2,05
Coefficiente de Variación de la longitud (%)	21,5	23,2	23,1	20,0	21,6
Porcentaje de supervivencia (%)	88,3	90,2	83,6	83,1	90

* Densidad inicial desdoblada al finalizar la segunda semana de experimentación.

Se puede observar que los peces tuvieron un incremento de peso y longitud, con un máximo valor de 0,216 g y 2,2 cm en el tratamiento T1 (3000 alevines. m^{-3}) y el mínimo peso y longitud alcanzados de 0,144g y 2,03 cm el tratamiento T3 (6000 alevines. m^{-3}).

Los tratamientos en los cuales los peces fueron disminuidos en su densidad de carga inicial al finalizar la segunda semana experimental (T4 y T5) presentan ligeramente un mayor valor de peso promedio final, pero con longitudes promedio similares (0,202 g, 2,19 cm y 0,170 g, 2,05 cm) que los tratamientos T2 y T3 cuya densidad inicial fue igual pero no fue desdoblada (0,193 g, 2,19 cm y 0,130 g y 2,03 cm).

La supervivencia fluctuó entre 90,2 y 83,1 por ciento sin ninguna tendencia respecto a la densidad de carga.

4.1.1 EFECTO DE LA DENSIDAD SOBRE EL CRECIMIENTO

Al evaluar los resultados de peso promedio final por tratamientos se observa la influencia de las densidades de carga iniciales. Numéricamente se aprecia una disminución del peso promedio final en función del incremento de la densidad en los tratamientos T1, T2 y T3.

Yousif (2002) menciona que se trata de un principio generalmente aceptado, que el aumento del número de peces (densidad de carga) afectará negativamente el crecimiento del pez. Las interacciones sociales a través de la competencia para la alimentación y el espacio pueden afectar negativamente el crecimiento de los peces, las densidades de población más altas, por lo tanto, conducen a un aumento del estrés y resulta un aumento de las necesidades de energía causando una reducción en las tasas de crecimiento y utilización de los alimentos (Breine *et al.* 1996).

A diferencia del peso promedio final, el incremento promedio de biomasa mostró una relación directamente proporcional con el aumento de la densidad de carga con valores de 0,606, 0,716 y 0,780 kg . m^{-3} en los tratamientos T1, T2 y T3 respectivamente.

El peso promedio final obtenido en todos los tratamientos de esta investigación (0,144 a 0,216 g) fue mayor a los reportados por Vera y Mair (1993) y Ramírez (2015).

Tetth-Doku *et al.* (2013) al igual que Ferdous *et al.* (2014) sólo obtuvieron un peso promedio final más alto en los tratamientos cuya densidad de carga fue de 1000 alevines. m^{-3} (0,226 y 0,330 g respectivamente). En cambio, Sanches y Hayashi (2001) y Delarete *et al.* (2007) obtuvieron en todos sus tratamientos pesos promedios finales mayores (0,207 a 0,377 g), estos autores trabajaron con densidades de carga de 1000 y 400 alevines. m^{-3} respectivamente, siendo muy inferior a las trabajadas en esta investigación (densidades de carga de 3000, 4000 y 6000 alevines. m^{-3}) notándose la influencia de la densidad en el peso final alcanzado.

Estos autores obtuvieron mayores pesos promedio finales que los de este trabajo debido a las bajas densidades de carga con las que trabajaron ellos y probablemente también al gasto energético que los alevines sufrieron al nadar contra la corriente propia del sistema biofloc (las dos primeras semanas de investigación los alevines eran arrastrados por la corriente que es necesaria para que el biofloc no sedimente).

Los valores de la tasa de crecimiento específico se muestran en la figura N°7, en ella se observa que la tasa de crecimiento específico también fue inversamente proporcional al aumento de la densidad de carga (T1 > T2 > T3).

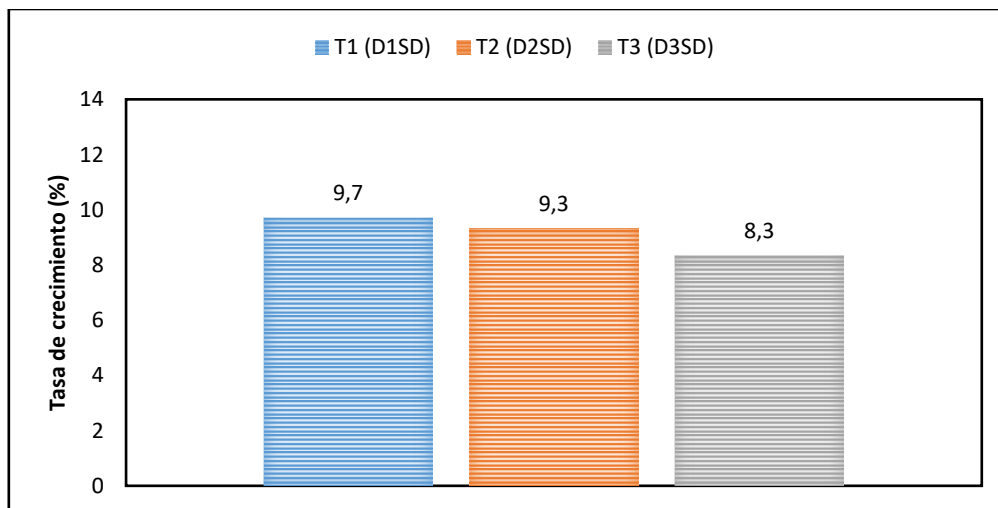


Figura 6: Promedios de la tasa de crecimiento específico (%) en los tratamientos estudiados durante la inversión sexual

Para realizar un mejor análisis de los resultados estos son estimados en valores correspondientes a dos periodos de tiempo, el primer periodo conformado por las dos primeras semanas de inversión sexual y el segundo por las dos últimas. En la figura N°8 al analizar la tasa de crecimiento específico se observa que no hay una gran variación de esta respecto a la densidad de carga en el primer periodo.

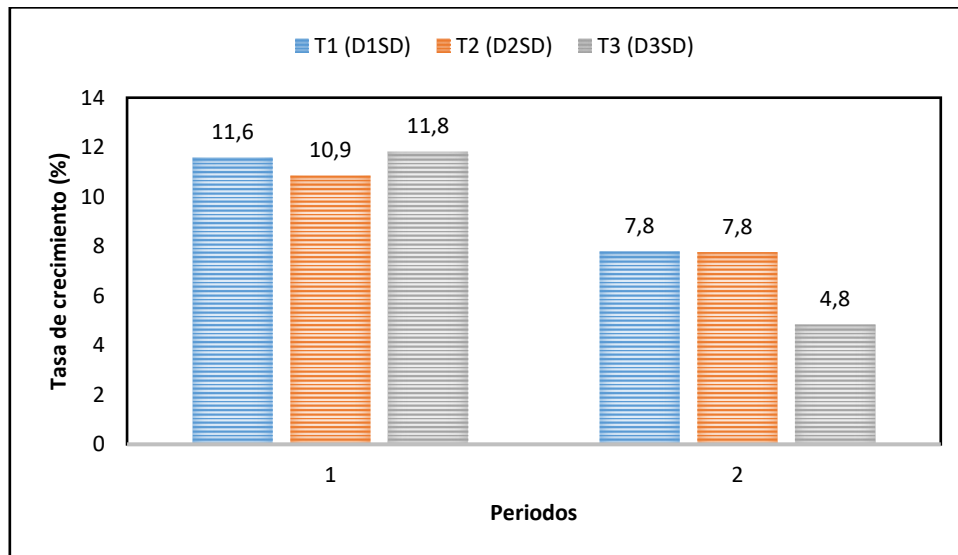


Figura 7: Promedios de tasa de crecimiento específico (%) por periodos en los tratamientos estudiados durante la inversión sexual

Sin embargo, en el segundo periodo si se observa la relación inversamente proporcional con la densidad de carga, siendo el tratamiento T1 ($3000 \text{ alevines} \cdot m^{-3}$) el que alcanzó el mayor valor promedio y el tratamiento T3 ($6000 \text{ alevines} \cdot m^{-3}$) el menor. Las tasas de crecimiento específico fueron menores que en que en primer periodo debido a que incrementándose la biomasa y ocupando el mismo espacio los afecta negativamente como afirman diversos autores mencionados anteriormente.

La curva de crecimiento influenciada por las diferentes densidades utilizadas en la etapa experimental se muestra en la figura N°9, en ella se observa que el crecimiento promedio fue paulatino para todos los tratamientos y aumentó significativamente en la última semana de inversión sexual, a excepción del tratamiento T3 ($6000 \text{ alevines} \cdot m^{-3}$) el cual tuvo un bajo crecimiento en la última semana experimental.

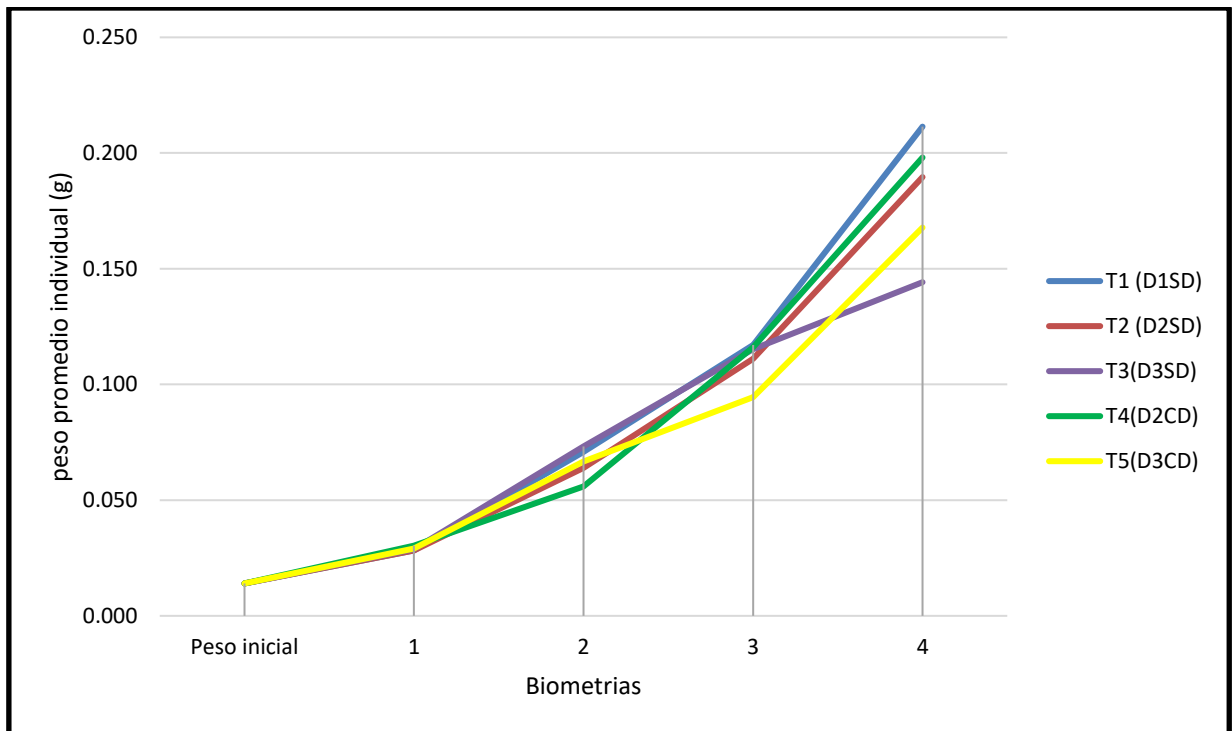


Figura 8: Curva de crecimiento (g) de los diferentes tratamientos durante la etapa experimental

El tratamiento T5 (de 6000 alevines. m^{-3} a 4000 alevines. m^{-3}) obtuvo el menor crecimiento en la tercera semana de inversión sexual, recuperándose en la última semana de la etapa experimental, esto probablemente sucedió debido a que al ser desdoblado al finalizar la segunda semana de inversión sexual obtuvo una recuperación del crecimiento las semanas posteriores, a diferencia del tratamiento T3, que al aumentar su biomasa en las últimas semanas produjo un menor ritmo de crecimiento.

4.1.2 EFECTO DEL DESDOBLE SOBRE EL CRECIMIENTO

Los tratamientos que fueron desdoblados T4 (de 4000 alevines. m^{-3} a 3000 alevines. m^{-3}) y T5 (de 6000 alevines. m^{-3} a 4000 alevines. m^{-3}) tuvieron un incremento de peso mayor con valores de 0,188 y 0,156 g que los tratamientos con los que tuvieron igual densidad de carga inicial T2 (4000 alevines. m^{-3}) y T3 (6000 alevines. m^{-3}) con pesos finales de 0,179 y 0,13 g respectivamente, pero fue menor en comparación con los tratamientos con los que compartieron igual densidad de carga final T1(3000 alevines. m^{-3}) y T2 (4000 alevines. m^{-3}) que alcanzaron pesos promedios finales de 0,202 y 0,179 g.

Debido a que tuvieron una densidad de carga menor las dos últimas semanas de inversión sexual los tratamientos que fueron desdoblados obtuvieron una recuperación del ritmo de crecimiento que les hizo obtener mayor incremento de peso que los tratamientos con los que mantenía igual densidad inicial pero no fue suficiente para igualar a los tratamientos que tuvieron la densidad de carga menor las cuatro semanas de inversión sexual.

El incremento de biomasa fue menor en los tratamientos desdoblados T4 y T5 ($0,550$ y $0,596 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$) comparándolos con los que tuvieron igual densidad de carga inicial T2 y T3 ($0,716$ y $0,780 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$) y también igual densidad de carga final T1 y T2 ($0,606$ y $0,716 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$).

En las figuras N°10 y 11 se observa la tasa de crecimiento específico promedio analizada por periodos de los tratamientos con desdoble comparándolos con los tratamientos que tuvieron igual densidad de carga inicial, se puede observar que estos tuvieron similar tasa de crecimiento específico en el primer periodo y después de haber realizado el desdoble (segundo periodo) los tratamientos desdoblados incrementan su tasa de crecimiento específico en comparación con los tratamientos no desdoblados.

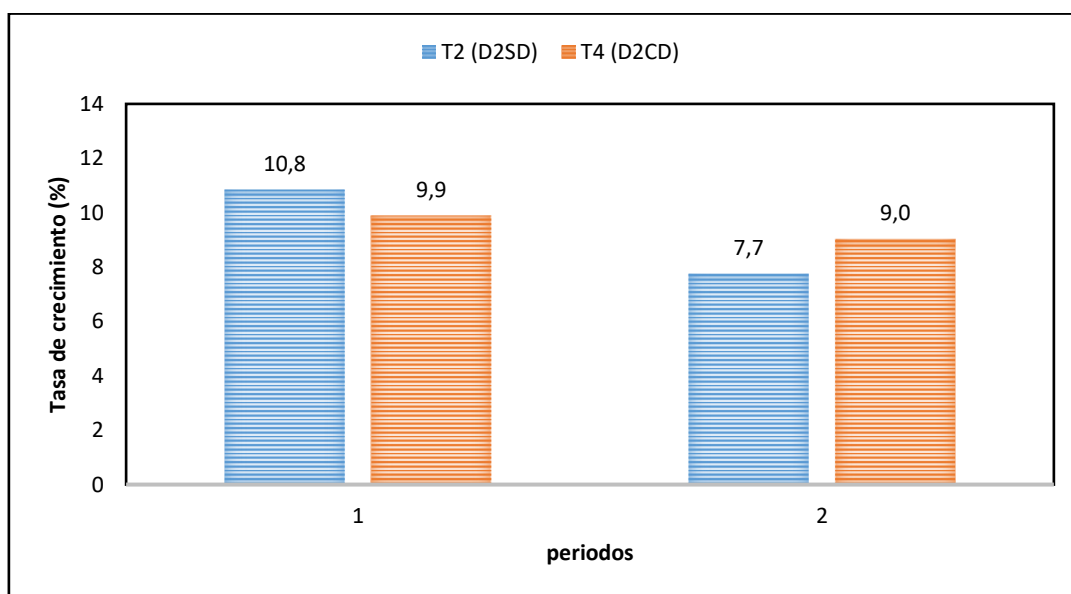


Figura 9: Tasa de crecimiento promedio (%) de los tratamientos que tuvieron densidad de carga inicial de $4000 \text{ alevines}\cdot\text{m}^{-3}$ por periodos durante la inversión sexual

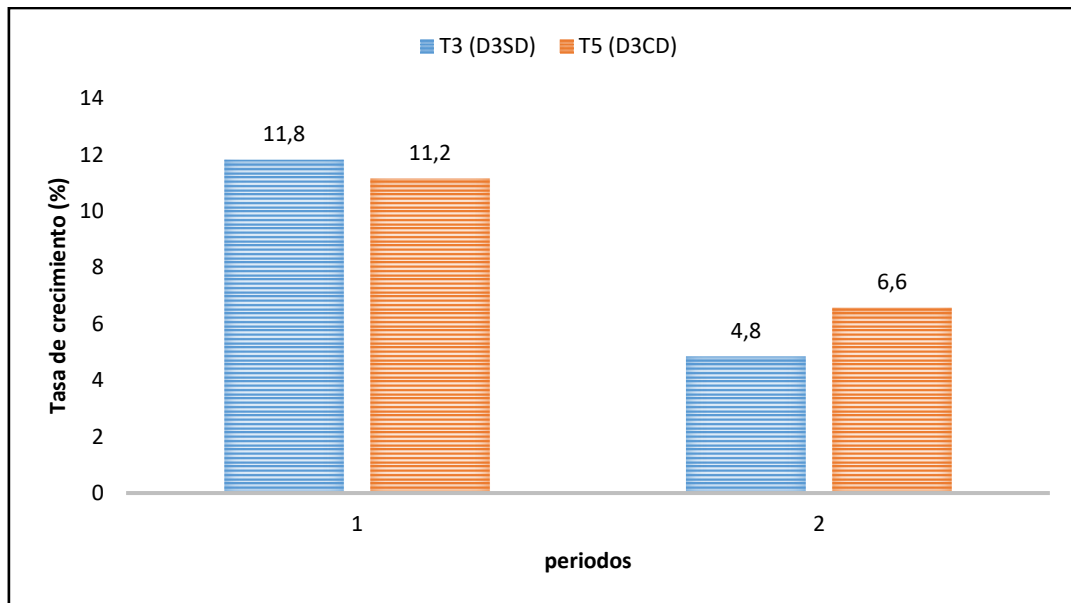


Figura 10: Tasa de crecimiento promedio (%) de los tratamientos que tuvieron densidad de carga inicial de 6000 alevines. m^{-3}) por periodos durante la inversión sexual

El mayor valor de la tasa de crecimiento específico en el segundo periodo demuestra la recuperación del ritmo de crecimiento que los alevines obtienen cuando es reducida su densidad de carga.

En general se observa que los tratamientos con densidad de carga inicial de 6000 alevines. m^{-3} tuvieron mayor tasa de crecimiento específico de 11,2 a 11,8 por ciento en el primer periodo de la fase experimental y en el segundo periodo fue mayor en los tratamientos con densidad de carga inicial de 4000 alevines. m^{-3} con valores de 7,7 a 9 por ciento.

El crecimiento en longitud también muestra un comportamiento inversamente proporcional a la densidad de carga al igual que el crecimiento en peso, el efecto del desdoble contribuye a la obtención de alevines de mayor longitud y peso al final de la etapa experimental.

Se aplicó el coeficiente de variación a las longitudes finales de los diferentes tratamientos que se observan en la figura 12. El menor coeficiente de variación que indica mayor uniformidad en el crecimiento lo obtuvo el tratamiento T4 y los mayores valores obtuvieron los tratamientos T2 y T3.

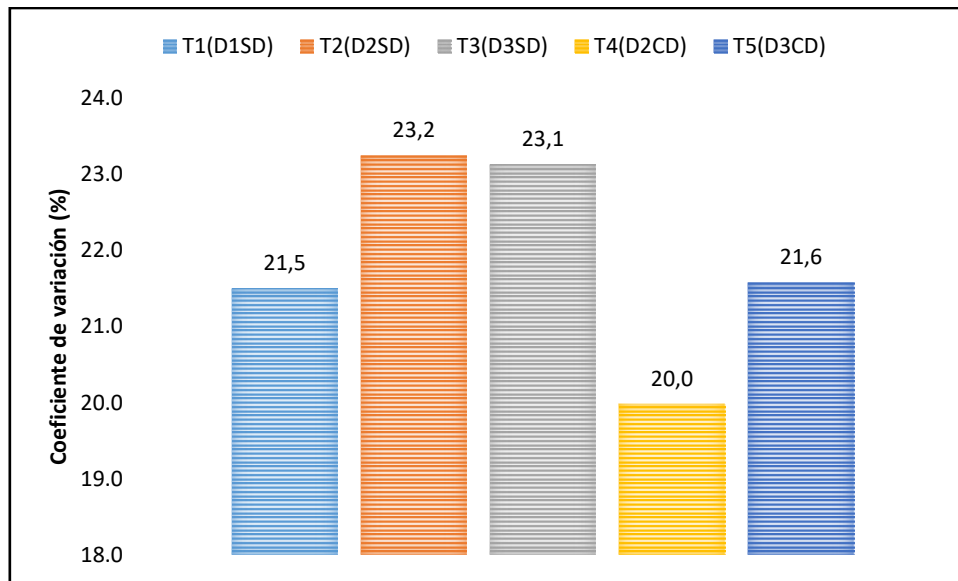


Figura 11: Coeficiente de variación de la longitud final de los diferentes tratamientos estudiados

Las diferencias del coeficiente de variación entre los tratamientos son pequeñas ya que todos están en el rango de 20 a 24 por ciento. Los tratamientos con densidades más altas obtuvieron mayor coeficiente de variación.

Los tratamientos que fueron desdoblados T4 y T5 obtuvieron menor coeficiente de variación (20,0 y 21,6 por ciento) en comparación con los tratamientos con los que tuvieron igual densidad de carga inicial T2 y T3 (23,2 y 23,1 por ciento) y también con los que tuvieron igual densidad de carga final T1 y T2 (21,5 y 23,2 por ciento respectivamente), notándose que el desdoble contribuye a una menor heterogeneidad entre peces.

Barbosa *et al.* (2006) estudiaron la heterogeneidad del crecimiento de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*) durante la inversión sexual y concluyeron que a bajas densidades de carga ($500 \text{ alevines} \cdot \text{m}^{-3}$) resulta menor crecimiento heterogéneo en tratamientos con alto y bajo coeficiente de variación inicial (obtuvieron coeficientes de variación finales cercanos al 20 por ciento), en cambio, con altas densidades ($2000 \text{ alevines} \cdot \text{m}^{-3}$) este incrementa o continúa los elevados niveles de heterogeneidad (obtuvieron coeficientes de variación finales cercanos al 50 por ciento). Esta investigación se obtuvo coeficientes de

variación cercanos a los tratamientos de baja densidad de carga ($500 \text{ alevines.m}^{-3}$) pero con densidades de carga igual o superior a los $3000 \text{ alevines.m}^{-3}$.

La mayor uniformidad alcanzada en esta investigación y con densidades superiores a la de Barbosa *et al.* (2006) probablemente ocurrió debido a que el biofloc es consumido por los alevines y al tener alimento constantemente no provocó una competencia por el alimento, típico de sistemas de cultivo tradicionales que causan una alta heterogeneidad cuando se trabaja con altas densidades de carga.

Los resultados de las pruebas estadísticas aplicadas al peso promedio final (g) se muestran en la tabla N°8

Tabla 8: Resultados de ANOVA para la variable crecimiento en la etapa de inversión sexual

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculado	Pr >F	Significancia	Coefficiente de variabilidad
Tratamientos	4	0,0116	0,0029	1,36	0,31	n.s.	26,406
Error	10	0,2138	0,0021				
Total	14	0,3298					

En el cuadro se observa que no hay diferencias significativas (ns) en el peso final promedio obtenido en cada uno de los tratamientos con un coeficiente de variabilidad adecuado de 26,4. Con un nivel de significación de 0,05, no existe evidencia estadística para afirmar que al menos uno de los tratamientos difiere al resto al analizar el crecimiento, aunque numéricamente como se discutió anteriormente la densidad de $3000 \text{ alevines.m}^{-3}$ (T1) obtuvo el mayor crecimiento.

Estadísticamente cualquiera de los tratamientos estudiados sería el adecuado para trabajar en la inversión sexual de tilapia, demostrando que el sistema biofloc soporta las densidades de carga estudiadas que son mayores a las densidades que tradicionalmente se aplican en esta etapa, no afectando el crecimiento y contribuyendo a la uniformidad de la población.

4.1.3 EFECTO DE LA DENSIDAD SOBRE LA SUPERVIVENCIA

La figura 13 ilustra los valores de porcentaje de supervivencia de los alevines en los tratamientos T1, T2 y T3.

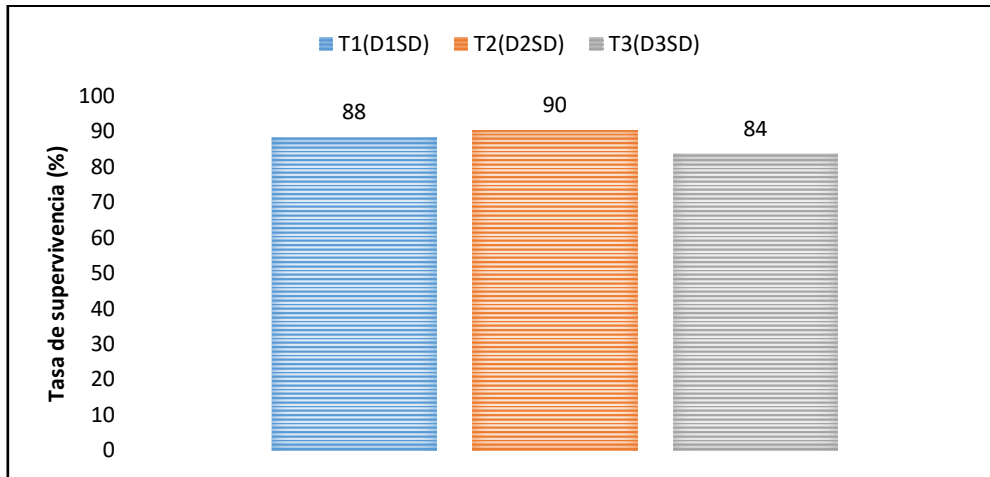


Figura 12: Porcentaje de supervivencia promedio (%) de los tratamientos estudiados durante la inversión sexual de tilapia

El tratamiento que obtuvo la mayor supervivencia fue el tratamiento T2 con un 90,2 por ciento y el menor fue el tratamiento T3 con una supervivencia del 83,6 por ciento.

Al dividir la fase experimental en dos periodos, se observa que la mayor mortalidad fue en el segundo periodo como se muestra en la figura 14 a diferencia del primer periodo donde la tasa de supervivencia estuvo entre 96 y 98 por ciento en los tratamientos evaluados.

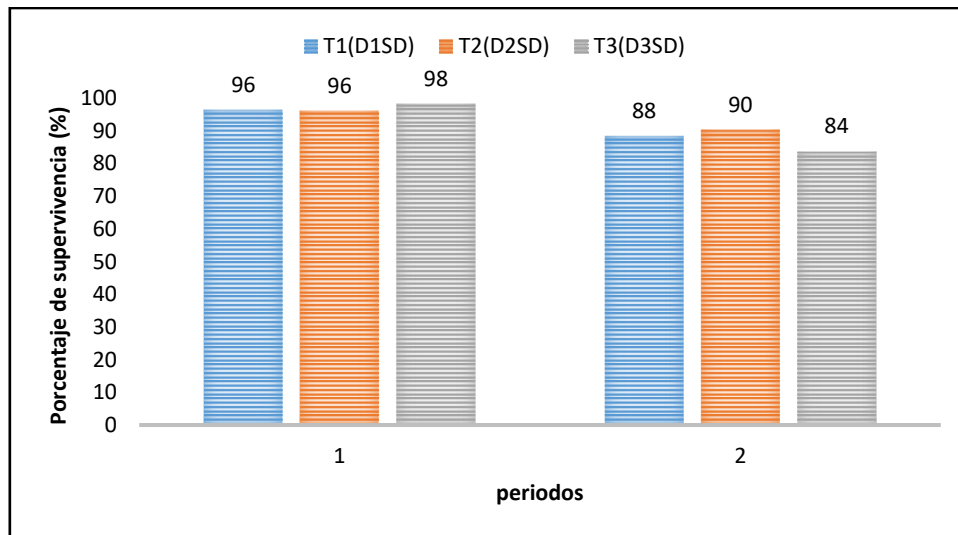


Figura 13: Porcentaje de supervivencia promedio (%) por periodos de los tratamientos estudiados durante la inversión sexual de tilapia

No se observa una relación proporcional entre la tasa de supervivencia y la densidad de carga en el sistema biofloc. Ferdeus *et al.* (2014), mencionan que hay una relación inversamente proporcional entre la tasa de supervivencia y la densidad de carga, trabajando en hapas, con densidades entre 1000 de 2000 alevinos. m^{-3} y obtuvieron tasas de supervivencia similares a las obtenidas en esta investigación.

Las supervivencias en todos los tratamientos han estado por encima del 80 por ciento, siendo mayores que las reportadas por Delarete *et al.* (2009), Borrovich (2010), Phelps y Okoko (2011), Tetteh-Doku *et al.* (2013) y Ramírez (2015) para la inversión sexual en diferentes sistemas. En cambio, fueron menores a las reportadas por Vera y Mair (1993) quienes obtuvieron una tasa de supervivencia de 92 por ciento en el tratamiento que fue realizado en hapa a una densidad de 2000 alevines. m^{-3} .

4.1.4 EFECTO DEL DESDOBLE SOBRE LA SUPERVIVENCIA

En las figuras 15 y 16 se muestra la tasa de supervivencia promedio por periodos de los tratamientos que fueron desdoblados.

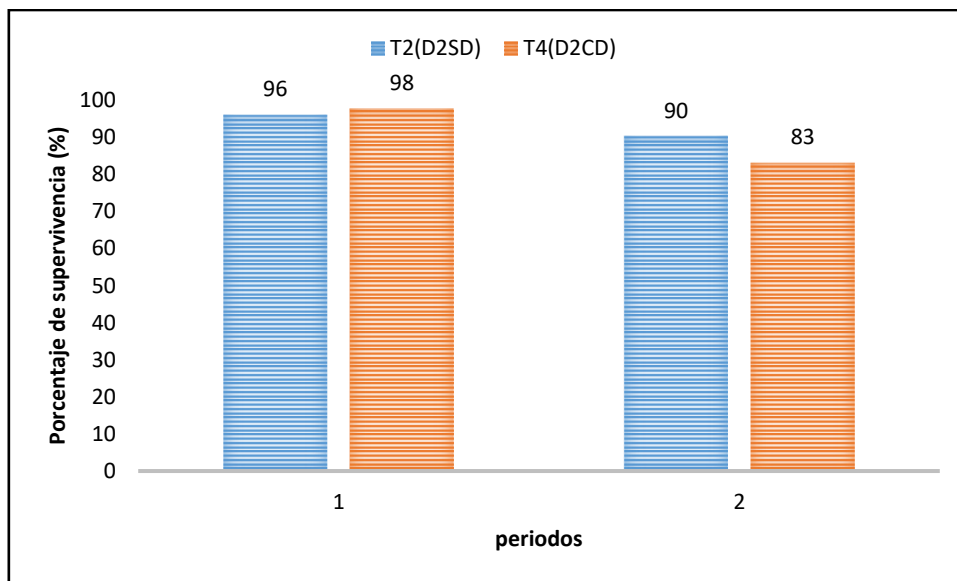


Figura 14: Porcentaje de supervivencia promedio (%) de los tratamientos que tuvieron densidad de carga inicial de 4000 alevines. m^{-3}) por periodos durante la inversión sexual

Se observa que el tratamiento T2 y T4(desdoblado) en la primera etapa obtuvieron una tasa de supervivencia muy cercanas, pero en la segunda etapa el tratamiento T4 obtuvo una mayor mortalidad, esto pudo deberse a la manipulación que sufrió al momento de realizar el desdoble que afectó a la población.

En la figura 17 al comparar el tratamiento T5 (desdoblado) con el tratamiento T3 en el primer periodo obtuvieron tasa de supervivencia iguales, pero en el segundo el tratamiento T3 obtuvo una menor tasa de supervivencia que el T5.

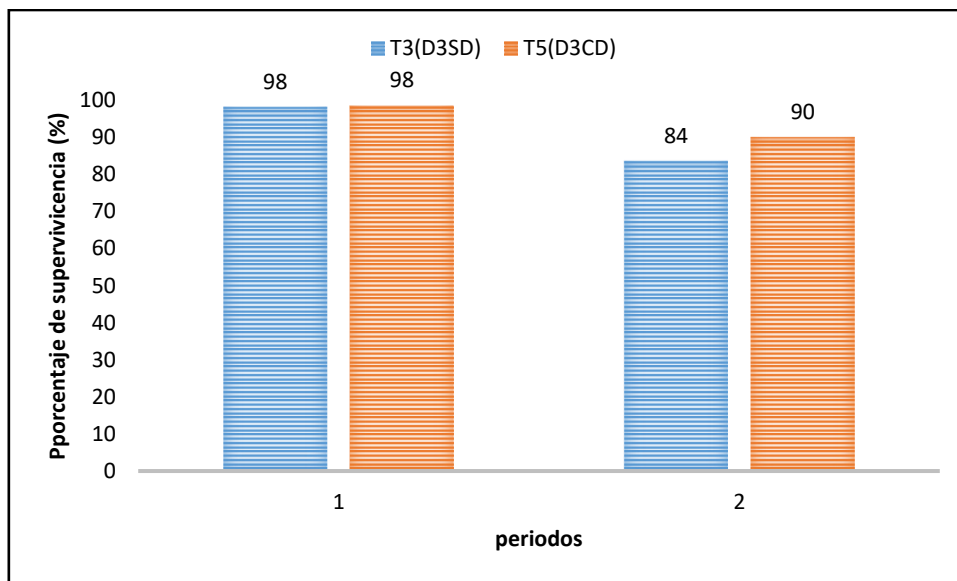


Figura 15: Porcentaje de supervivencia promedio (%) de los tratamientos que tuvieron densidad de carga inicial de 6000 alevines. m^{-3}) por periodos durante la inversión sexual

Con este análisis no se observa una relación proporcional entre el desdoble y la supervivencia.

Los resultados de las pruebas estadísticas (ANOVA) para determinar si hay diferencias significativas en la supervivencia obtenida en cada uno de los tratamientos se observan en la tabla N°9.

Tabla 9: Resultados de ANOVA para la variable supervivencia de los tratamientos que mantuvieron su densidad inicial en la etapa de inversión sexual.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculado	Pr >F	Significancia	Coficiente de variabilidad
Tratamientos	2	0,02	0,01	0,38	0,6969	n.s.	13,325
Error	6	0,157	0,0261				
Total	8	0,1771					

El cuadro muestra que no hay diferencias significativas (ns) en la supervivencia obtenida en cada uno de los tratamientos con un coeficiente de variabilidad bajo de 13,3. Con un nivel de significación de 0,05, no existe evidencia estadística para afirmar que al menos uno de los tratamientos difiere al resto al analizar la supervivencia.

A partir del estudio, se encontró que en las tasas de supervivencia no hubo diferencias significativas en los tratamientos y los promedios más altos no correspondieron a las densidades más bajas por lo que no se puede atribuir que estas diferencias hayan sido ocasionadas por superpoblación que da lugar a la competencia por espacio y alimento como mencionan diversos autores citados.

Al no haber una relación entre la densidad y la supervivencia estadísticamente ni numéricamente se puede afirmar que todas las densidades de carga aplicadas son óptimas si se quiere obtener una alta supervivencia en la etapa de inversión sexual con tecnología biofloc.

4.2 PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA

4.2.1 RESULTADOS DE LA MEDICIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA

Los resultados de los parámetros de calidad de agua evaluados en la presente investigación se observan en la tabla N°10.

Tabla 10: Resultados de los parámetros de calidad de agua evaluados en esta investigación

		T1(D1SD)	T2(D2SD)	T3(D3SD)	T4(D2CD)	T5(D3CD)
	Densidad (alevines. m^3)	3000	4000	6000	De 4000 a 3000	De 6000 a 4000
Temperatura	Promedio	28,3	28,3	27,9	28	27,9
	Máximo	31,8	33,9	31,5	32,3	32,6
	Mínimo	25,1	24,9	23,8	24,9	24,7
	Desviación estándar	0,8	0,9	1	0,9	0,9
Oxígeno disuelto ($mg.L^{-1}$)	Promedio	6,93	6,96	6,98	7,02	7,03
	Máximo	7,35	7,33	7,6	7,34	7,41
	Mínimo	6,35	6,59	6,47	6,73	6,72
	Desviación estándar	0,17	0,15	0,22	0,12	0,14
Oxígeno porcentaje de saturación (%)	Promedio	90,5	91,09	90,37	91,52	91,1
	Máximo	97	95,47	97,9	96,8	94,27
	Mínimo	83,33	87,07	83,3	88,93	87,47
	Desviación estándar	1,96	1,69	2,16	1,44	1,32
Potencial de hidrógeno	Promedio	8,42	8,44	8,42	8,38	8,35
	Máximo	8,61	8,59	8,7	8,55	8,57
	Mínimo	8,09	8,24	8,16	8,02	7,95
	Desviación estándar	0,12	0,09	0,11	0,12	0,15
NAT ($mg.L^{-1}$)	Promedio	0,61	0,58	0,04	0,58	0,73
	Máximo	0,87	0,86	0,99	0,95	1,37
	Mínimo	0,23	0,11	0,18	0,15	0,27
N-NO ₂ ($mg.L^{-1}$)	Promedio	0,033	0,031	0,04	0,032	0,033
	Máximo	0,064	0,056	0,102	0,055	0,067
	Mínimo	0,005	0,006	0,006	0,005	0,005
N-NO ₃ ($mg.L^{-1}$)	Promedio	53,3	45,1	50,9	50	52,2
	Máximo	138,8	67,9	83,8	76,4	80,2
	Mínimo	9,3	18,9	11,3	6,9	12,9

Como se observa en la tabla N°10 los valores promedios de temperatura se encuentran en el rango de 27 °C a 29°C, con una desviación estándar menor a 1°C en todos los tratamientos.

Las temperaturas mínimas y máximas de todos los tratamientos se encuentran dentro del rango óptimo sugerido por Shelton *et al.* (1978), Marcillo y Landivar (2000), Meyer (2004) y Saavedra (2006). Para Delarete *et al.* (2009) la temperatura de 30°C es la ideal para obtener las mejores tasas de crecimiento y supervivencia en el proceso de inversión sexual.

En la Figura 17 se observa la variación diaria de temperatura promedio para cada tratamiento durante la inversión sexual.

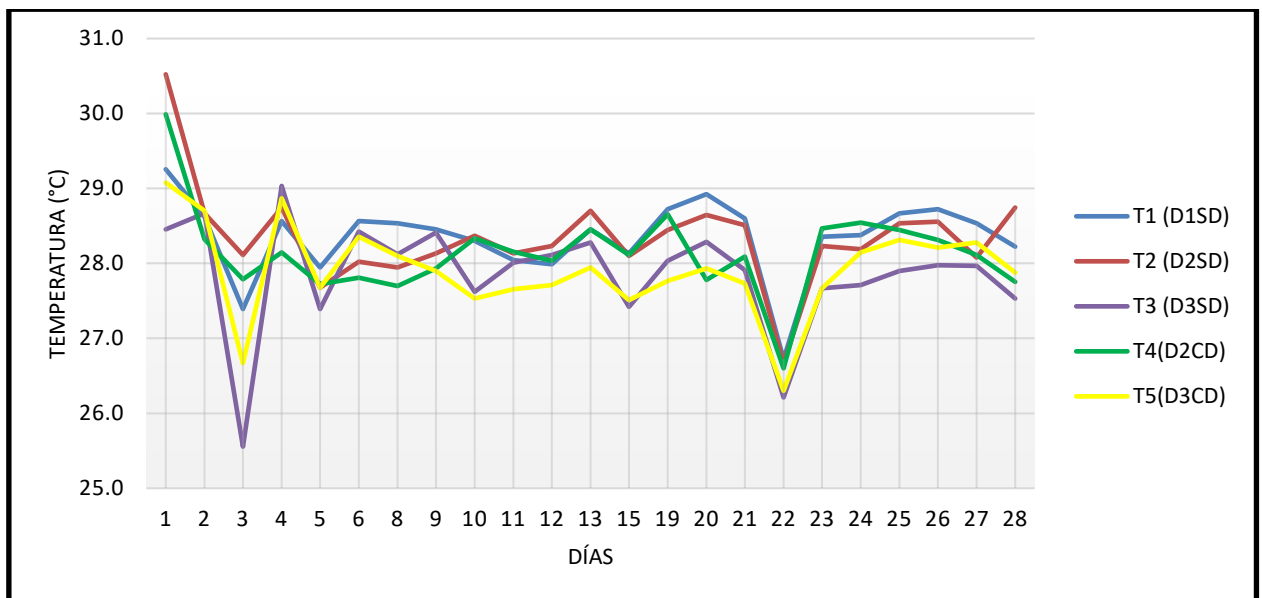


Figura 16: Variación de la temperatura promedio (°C) por tratamiento

Los promedios de temperatura diaria se encuentran en un rango sobre los 27°C y con diferencias menores a 2°C en todos los tratamientos, excepto los días tres y veintidós en los que hubo un corte del suministro eléctrico afectando el valor promedio registrado. La corriente eléctrica es de suma importancia en los sistemas biofloc ya que se utilizan termostatos y un sistema de aireación.

El oxígeno disuelto promedio (mg.L^{-1}) estuvo en el rango de 6,9 a 7,05 mg.L^{-1} en todos los tratamientos, siendo su valor mínimo registrado de 6,35 mg.L^{-1} correspondiente al

tratamiento T1. El porcentaje de saturación promedio estuvo en el rango de 90,0 a 91,0 por ciento en todos los tratamientos, obteniendo como valor mínimo de 83,3 por ciento los tratamientos T1 y T3.

Para Avimelech *et al.* (2008), la concentración de oxígeno debe ser superior a 4 mg.L^{-1} para cubrir el consumo de oxígeno del biofloc. En cambio, Hargreaves (2013) indica que el biofloc tiene un consumo de oxígeno de $6 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ por hora, en todos los tratamientos la concentración de oxígeno fue superior a los $6,3 \text{ mg.L}^{-1}$ como se aprecia en la figura 18 por lo que se asegura que las concentraciones de oxígeno no fue un impedimento para el desarrollo del biofloc.

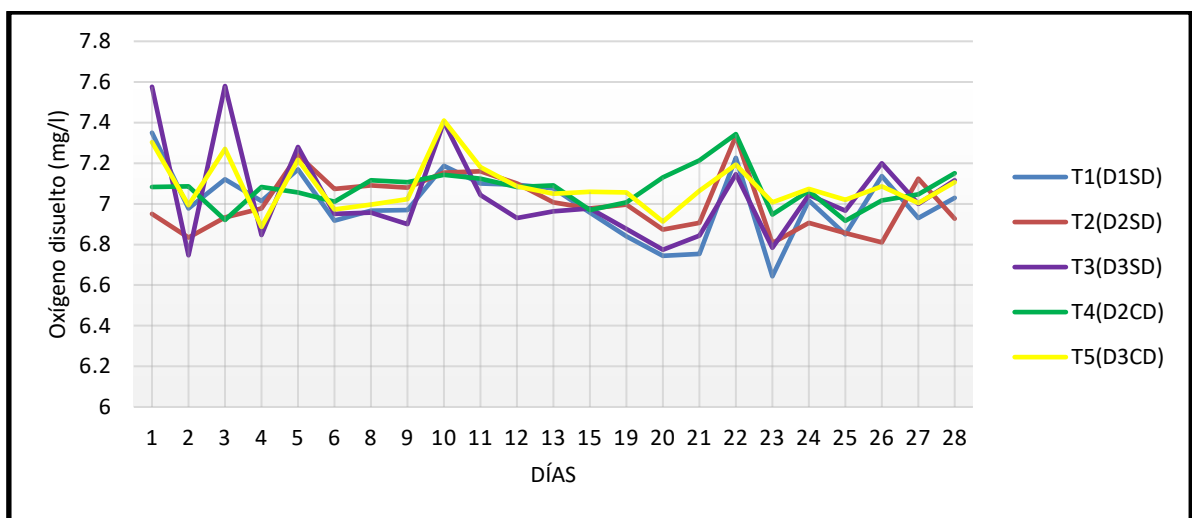


Figura 17: Variación diaria de oxígeno disuelto promedio (mg. L^{-1}) por tratamiento

El promedio diario de oxígeno disuelto se encuentra en un rango de $6,6$ a $7,6 \text{ mg.L}^{-1}$ y el promedio diario de porcentaje de saturación se encuentra por encima de los 86 por ciento, registrándose una caída entre finales de la tercera y comienzos de la cuarta semana de inversión sexual, siendo los tratamientos T1 y T3 los que alcanzaron los menores promedios diarios de porcentaje de saturación como se observa en la figura 19.

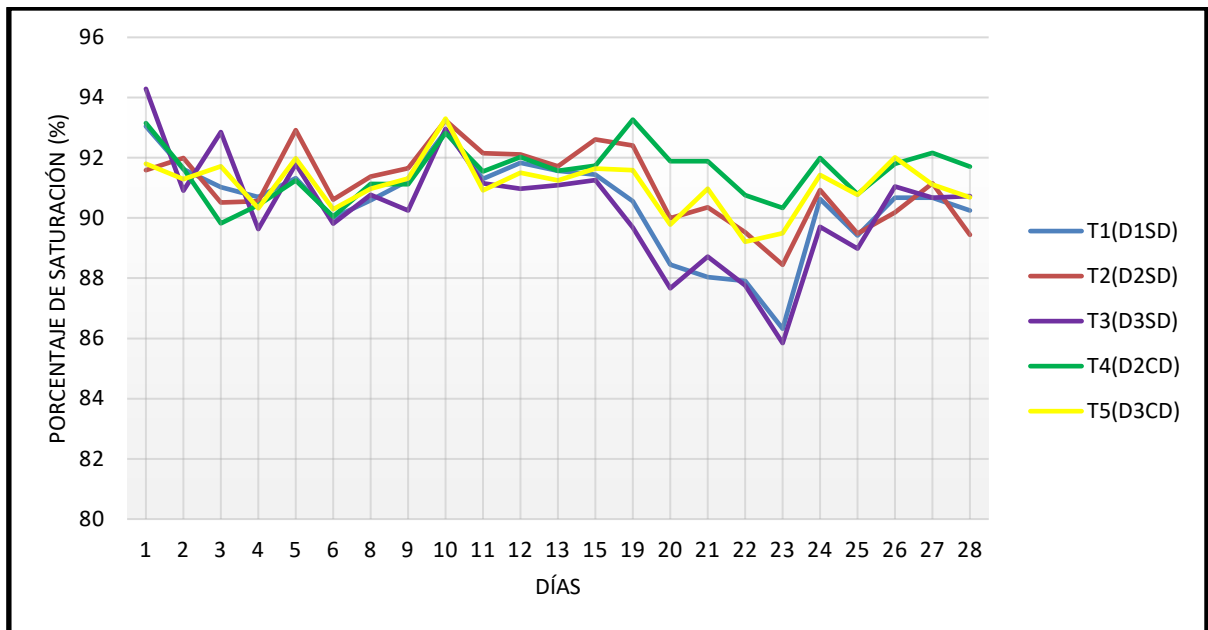


Figura 18: Variación del porcentaje de saturación de oxígeno promedio (%) por tratamiento

El valor promedio de potencial de hidrógeno (pH) se situó en el rango de 8,3 a 8,5, obteniendo valores mínimos de 7,95 cuyo valor corresponde al tratamiento T3 y valor máximo de 8,7 que corresponde al tratamiento T2, los tratamientos presentaron una desviación estándar menor a 0,2.

Para FONDEPES (2004) los valores óptimos de pH para tilapia son entre 7 y 8, no pueden tolerar valores menores de 5 pero sí pueden resistir valores alcalinos de 11. Boyd (1979) considera que el rango aceptable para *O. niloticus* es de 4 a 11. Como se aprecia en la figura 21 los valores de pH son óptimos en todos los tratamientos y en todo el tiempo de la fase experimental.

El manejo de la alcalinidad en todos los tratamientos mantuvo estable el pH durante el día y con el paso de las semanas, este parámetro se controló semanalmente mediante la corrección de alcalinidad, aunque, como se observa en la figura 20 todos los tratamientos registraron caídas en sus valores al finalizar la tercera y comienzos de la cuarta semana de inversión sexual, siendo el tratamiento T3 el que alcanzó los valores promedios de pH más bajos.

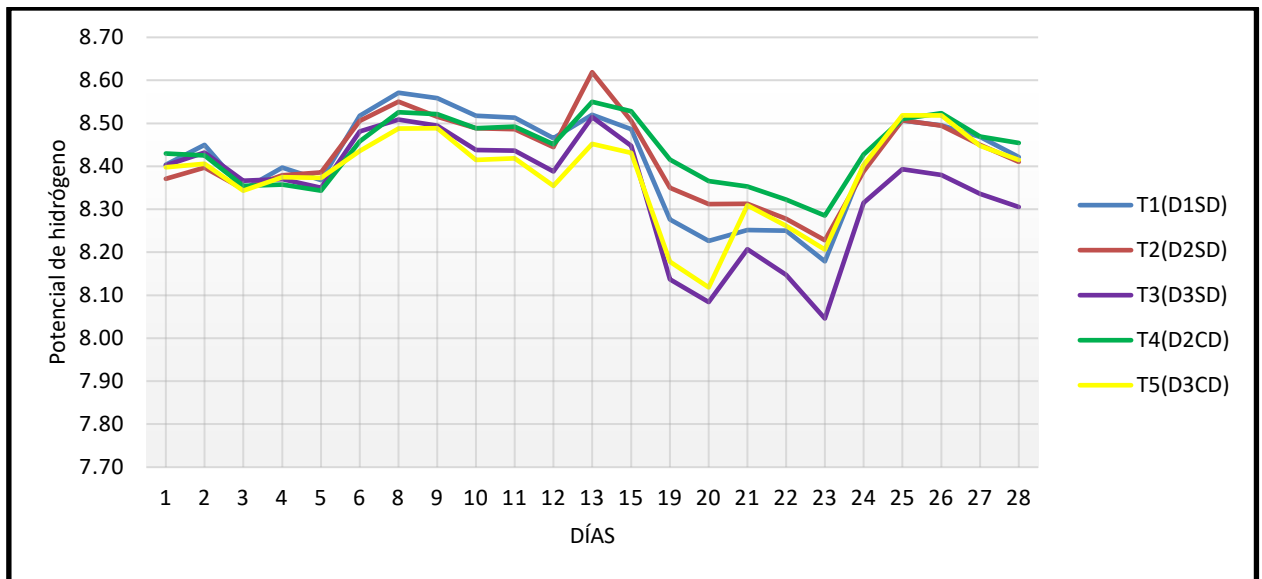


Figura 19: Variación diaria del potencial de hidrógeno promedio por tratamiento

La alcalinidad fue medida una vez por semana ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), el valor obtenido fue ajustado a $150 \text{ mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ mediante el uso de la tabla propuesta por Loyles y Malone (1997).

Cómo se observa en la figura N°21, se inició la fase experimental con una alcalinidad de $150 \text{ mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ propuesta por Azim *et al.* 2008 para un correcto funcionamiento del biofloc al finalizar la semana se obtenía el consumo de bases y este valor era inmediatamente corregido a $150 \text{ mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$.

A partir de la tercera semana se observa que los tratamientos T3 y T5 son los que mayor consumo de bases carbonatadas tuvieron, al finalizar la fase experimental el tratamiento que más bases consumió fue el tratamiento T3, cuyo valor de alcalinidad promedio llegó a los $58 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

En la última semana experimental debido a que la biomasa fue mayor y similar en todos los tratamientos el consumo de bases fue mayor.

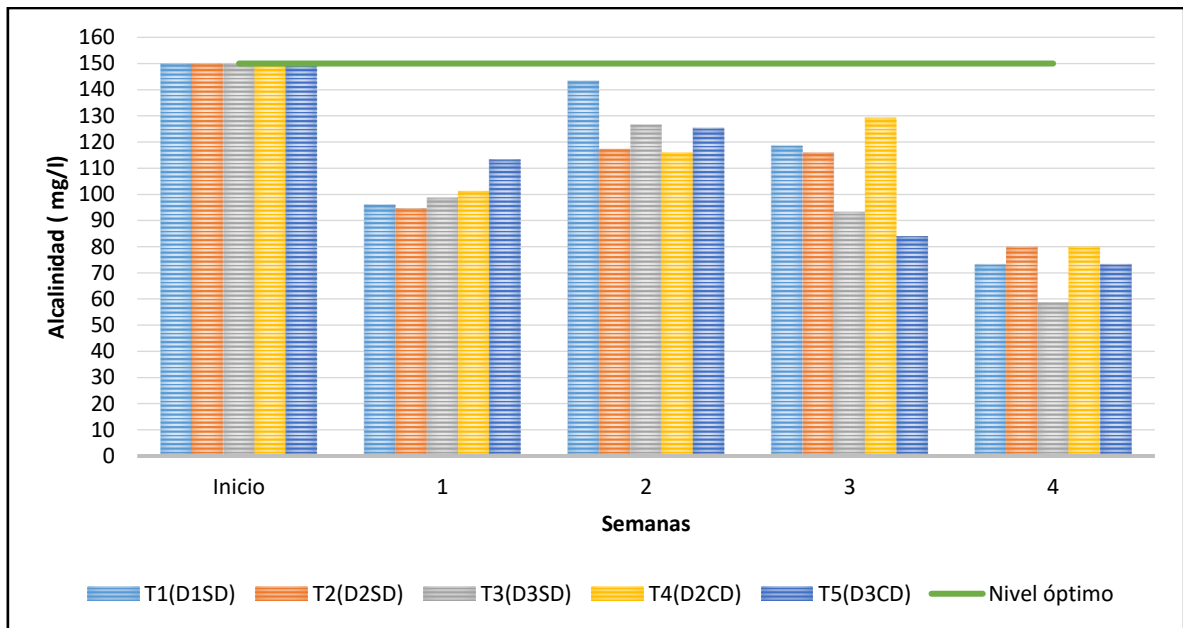


Figura 20: Variación de alcalinidad promedio (mg. L^{-1}) por tratamiento

Los sólidos sedimentables fueron medidos diariamente y son representados en figura N°22.

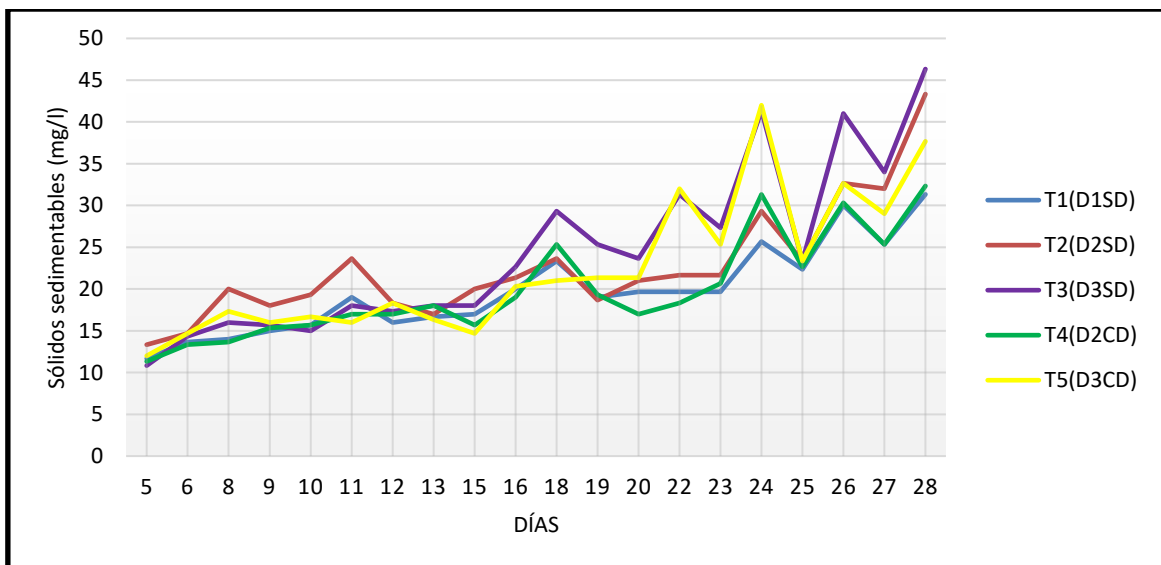


Figura 21: Variación de sólidos sedimentables promedio (ml) por tratamiento

Los sólidos sedimentables tuvieron comportamiento ascendente a lo largo de la fase experimental a pesar de que se realizó manejos diarios para reducir la concentración, a

partir de la tercera semana los tratamientos con más densidad de carga alcanzan los mayores niveles de sólidos sedimentables ($T3 > T2 > T1$).

El aumento de los sólidos sedimentables se da por el incremento y constante ingreso de alimento a los tratamientos, el alimento permite el desarrollo de organismos heterotróficos y autótrofos que son parte del biofloc, los sólidos también están compuestos por el alimento no consumido.

Los tratamientos desdoblados T4 y T5 al finalizar la fase experimental obtuvieron menores niveles de sólidos sedimentables comparándolos con los tratamientos con los que compartieron igual densidad de carga inicial T2 y T3, el menor ritmo de crecimiento del nivel de sólidos sedimentables se debe a la disminución de la biomasa luego del desdoble.

En todo el tratamiento los valores de sólidos sedimentables promedio estuvieron por debajo de los $50 \text{ ml. } L^{-1}$ en todos los tratamientos.

Los descensos de la curva de variación de sólidos sedimentables ocurren por la remoción que se aplicó a los tratamientos, la cual fue más intensiva en la última semana de experimentación.

En la última semana se observó la formación de una espuma blanca en la superficie del acuario similar a lo reportado por Mejía (2014), coincidió con los niveles de alcalinidad que fueron menores a los $80 \text{ mgCaCO}_3. L^{-1}$ y el aumento rápido de los niveles de sólidos sedimentables. Al realizar la medición de sólidos en el cono inhoff se observaron unas burbujas que impedían la correcta medición. Arellano (2005) afirma que estos síntomas son denominados *bulking and foaming* que son originados por organismos filamentosos que predominan cuando existe un desbalance de los niveles de carbono inorgánico en el agua. El desbalance de carbonó inorgánico ocurrió porque en la última semana de inversión sexual se incrementó considerablemente la biomasa ocasionando un mayor consumo de bases, esto se corrigió agregando bicarbonato de sodio, por lo que se recomienda que en la última semana del tratamiento la frecuencia de corrección de la alcalinidad sea dos veces por semana.

El nitrógeno amoniacal total promedio se mantuvo por debajo de $1 \text{ mg. } L^{-1}$ en todos los tratamientos excepto el tratamiento T5(D3CD) que alcanzó en uno de sus repeticiones el

valor de $1,37 \text{ mg.L}^{-1}$, estos valores están dentro del rango de tolerancia para tilapia cuyo límite superior es de 2 mg.L^{-1} (Poot *et al.* 2009).

Se utilizó un biofloc estabilizado en la fase experimental, el cual se realizó por medio de tres bioreactores de 300L de capacidad (Etapa pre experimental), esto originó que los niveles de amonio sean casi constantes en todos los tratamientos durante el periodo de inversión sexual.

No se requirió agregar melaza en la relación descrita por Correia (2014) de carbono:nitrógeno igual a 6:1 en toda la fase experimental debido a que el nitrógeno amoniacal total promedio no superó el nivel de 1 mg.L^{-1} en todos los tratamientos.

Los resultados del nitrógeno del nitrito (N-NO_2) en todos los tratamientos obtuvieron concentraciones promedias muy bajas menores a $0,04 \text{ mg.L}^{-1}$, estos valores confirman que se trabajó con un biofloc estabilizado.

La concentración promedio del nitrógeno del nitrato (N-NO_3) se mantuvo por debajo de los 60 mg.L^{-1} , la baja concentración de nitritos presentados en la etapa experimental se debe a la completa oxidación de amonio a nitrato (Cohen *et al.* 2005). Los peces generalmente toleran concentraciones de nitratos de 600 a 700 mg.L^{-1} afectan el consumo de alimentos en tilapias (Rakocy *et al.* 2000).

4.2.2 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ESTADÍSTICAS A LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA

Se realizó la prueba estadística ANOVA a los promedios semanales de los parámetros de calidad de agua, con la finalidad de determinar las semanas en las que hubo posibles diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los resultados se observan en la tabla N°11.

Tabla 11: Resultados de la evaluación estadística (ANOVA) para los parámetros de calidad de agua evaluados

		Semanas experimentales			
		Sem 1	Sem 2	Sem 3	Sem 4
Temperatura	Val. F	0,78	2,14	1,93	1,68
	Pr >F	0,564	0,15	0,182	0,231
	Sig.	ns	ns	ns	ns
	Coef. Var.	1,778	0,807	1,538	1,305
Concentración de oxígeno disuelto	Val. F	0,59	0,52	2,08	0,97
	Pr >F	0,679	0,725	0,159	0,465
	Sig.	ns	ns	ns	ns
	Coef. Var.	1,489	0,765	1,47	1,962
Potencial de hidrógeno	Val. F	0,3	7,89	10,98	2,09
	Pr >F	0,872	0,004	0,001	0,156
	Sig.	ns	*	*	ns
	Coef. Var.	0,351	0,276	0,547	0,827
Alcalinidad	Val. F	1,78	3,18	16,68	2,88
	Pr >F	0,21	0,063	2.00E-04	0,08
	Sig.	ns	ns	**	ns
	Coef. Var.	9,611588	8,427039	7,389163	12,17989
Sólidos Sedimentables	Val. F	0,07	1,1	4,89	2,95
	Pr >F	0,99	0,409	0,019	0,075
	Sig.	ns	ns	*	ns
	Coef. Var.	34,18951	13,35878	6,938165	14,32307
NAT	Val. F	0,72	3,03	2,01	0,7
	Pr >F	0,596	0,071	0,17	0,609
	Sig.	ns	ns	ns	ns
	Coef. Var.	44,59283	22,71713	50,09106	10,01491
N-NO ₂	Val. F	0,58	0,6	1,06	0,4
	Pr >F	0,685	0,671	0,425	0,803
	Sig.	ns	ns	ns	ns
	Coef. Var.	49,27522	22,68602	28,06869	20,66783
N-NO ₃	Val. F	0,65	0,2	0,26	0,48
	Pr >F	0,643	0,934	0,9	0,749
	Sig.	ns	ns	ns	ns
	Coef. Var.	28,85491	74,05553	20,962	19,46148

En la tabla N°11 se observa que a un nivel de significación de 0,05 no hay diferencias significativas en los promedios semanales de los parámetros temperatura, concentración de oxígeno disuelto, NAT, N-NO₂ y N-NO₃ por tratamiento en todas las semanas de la

fase experimental, por lo que no se puede afirmar que estos hayan influenciado las diferencias de crecimiento y supervivencia en los tratamientos estudiados.

Los promedios semanales de los parámetros potencial de hidrógeno, alcalinidad y sólidos sedimentables si presentaron diferencias significativas, los promedios semanales de potencial de hidrógeno presentaron diferencias significativas en la segunda y tercera semana a diferencia de los promedios semanales de los parámetros alcalinidad y sólidos sedimentables que presentaron diferencias significativas sólo en la tercera semana experimental.

Se realizó la prueba de Tukey a los promedios semanales de los parámetros que presentaron diferencias significativas en la prueba de ANOVA, con la finalidad de diferenciar los tratamientos con resultados promedios diferentes. Los resultados se observan en la Tabla N°12, los promedios que no compartan una letra (a, b, c) indican entre que tratamientos se presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Tabla 12: Resultados de la prueba de Tukey para los parámetros que presentaron diferencias significativas en la prueba ANOVA

		T1(D1SD)	T2(D2SD)	T3(D3SD)	T4(D2CD)	T5(D3CD)
Potencial de hidrógeno	Semana 1	8,41 (a)	8,40 (a)	8,40 (a)	8,39 (a)	8,38 (a)
	Semana 2	8,52 (a)	8,52 (a)	8,46 (ab)	8,50 (a)	8,44 (b)
	Semana 3	8,34 (ab)	8,41 (a)	8,25 (b)	8,45 (a)	8,26 (b)
	Semana 4	8,42 (a)	8,38 (a)	8,27 (a)	8,42 (a)	8,34 (a)
Alcalinidad	Semana 1	96,00 (a)	94,67 (a)	98,67 (a)	101,22 (a)	113,33 (a)
	Semana 2	143,33 (a)	117,33 (a)	126,67 (a)	116,00 (a)	125,33 (a)
	Semana 3	118,67 (a)	116,00 (a)	93,33 (b)	129,33 (a)	84,00 (b)
	Semana 4	73,33 (a)	80,00 (a)	58,67 (a)	80,00 (a)	73,33 (a)
Sólidos sedimentables	Semana 1	12,67 (a)	14,00 (a)	12,58 (a)	12,33 (a)	13,33 (a)
	Semana 2	16,06 (a)	19,39 (a)	16,67 (a)	16,11 (a)	16,78 (a)
	Semana 3	19,80 (b)	20,93 (a)	23,80 (a)	19,27 (b)	19,73 (b)
	Semana 4	24,86 (a)	29,14 (a)	34,95 (a)	25,86 (a)	31,71 (a)

Como se observa en la tabla N°12, en el parámetro potencial de hidrógeno la prueba de Tukey diferenció con un nivel de significación de 0,05 dos grupos en la segunda semana,

el primer grupo conformado por los promedios más altos de pH T1, T2, T3 y T4 y el grupo con los promedios más bajos T3 y T5. En la tercera semana también se identificaron dos grupos, el grupo con los promedios más altos T1, T2 y T4 y el grupo con los promedios más bajos T3 y T5.

Los tratamientos cuyo valor promedio semanal de pH fue menor (T3 y T5) en la segunda y tercera semana de inversión sexual fueron los tratamientos con mayores densidades de carga, esto es debido a que al ser mayor su biomasa se les suministra más alimento y los sólidos (biofloc) aumentan.

En sistemas biofloc tanto la asimilación bacteriana y los procesos de nitrificación reducen la alcalinidad (Ebeling *et al.* 2006) y sumado a la respiración de los alevines y de diferentes microorganismos presentes en el floc (Ray *et al.* 2010) generan la fluctuación del pH en el tiempo. La diferencia entre los dos grupos no es muy grande debido a las correcciones de alcalinidad que se les aplicaba semanalmente.

En el parámetro alcalinidad se diferenció dos grupos en la tercera semana, el primer grupo conformado por los promedios más altos de alcalinidad (menor consumo de bases) T1, T2 y T4 y el grupo con los promedios más bajos (mayor consumo de bases) T3 y T5, los tratamientos que consumieron más bases en la tercera semana también tuvieron el pH más bajo demostrando la relación directa entre la alcalinidad y el pH.

En la última semana de experimentación no hubo diferencias significativas debido a que la biomasa fue similar en todos los tratamientos.

En la tercera semana de inversión sexual la prueba de Tukey diferenció dos grupos en el parámetro de sólidos sedimentables al igual que la alcalinidad, el primer grupo conformado por los promedios más altos T2 y T4 y el grupo con los promedios más bajos T1, T4 y T5, probablemente este menor nivel de sólidos ocurrió debido a que a los tratamientos T4 y T5 se les redujo la densidad inicial al finalizar la segunda semana de inversión sexual provocando un ingreso menor de alimento y por ende menor volumen de sólidos.

La calidad de agua, principalmente la concentración de los compuestos nitrogenados, en los sistemas biofloc no es afectada por el incremento de la densidad desde 3000, 4000 y 6000 alevines. m^{-3} .

El sistema biofloc ha demostrado ser un buen medio de cultivo para realizar la inversión sexual de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en términos de crecimiento, supervivencia y densidades de carga de hasta 6000 alevines. m^{-3} , los parámetros de calidad de agua han sido ideales para la especie demostrando que es factible duplicar la densidad de carga de 3000 a 6000 alevines. m^3 Además, es ambientalmente sostenible (menor consumo de agua comparándolo con los demás sistemas de alevines de tilapia y el menor impacto de la hormona residual utilizada en esta etapa por lo que no se libera al medio ambiente).

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de la presente investigación las conclusiones son:

1. El crecimiento y la supervivencia no se vieron afectadas significativamente ($p \geq 0,05$) por las densidades de carga estudiadas en sistemas biofloc.
2. El tratamiento T1 que tuvo una densidad de carga inicial de 3000 alevines. m^{-3} y al cual no se le aplicó el desdoble, numéricamente obtuvo el mayor crecimiento.
3. El tratamiento T2 que tuvo una densidad de carga inicial de 4000 alevines. m^{-3} y al cual no se le aplicó el desdoble, numéricamente obtuvo la mayor supervivencia.
4. El desdoble de densidades de cargas de 4000 a 3000 alevines. m^{-3} y de 6000 a 3000 alevines. m^{-3} de carga al finalizar la segunda semana de inversión sexual permitió una recuperación del ritmo de crecimiento.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda un control diario de los sólidos sedimentables ya que en la última semana de inversión sexual se elevaron considerablemente, sería útil contar con un sistema de separación de sólidos dentro del propio cultivo y así no aplicar el procedimiento que se realizó en esta investigación que puede generar estrés en los alevines.
- Se recomienda replicar la investigación en un lugar donde haya incidencia de luz solar para analizar el efecto que puede tener las poblaciones algales del biofloc en esta etapa.
- Se recomienda trabajar con densidades de carga mayores de 6000 alevines. m^3 para observar el comportamiento del biofloc y la operatividad del sistema de producción.
- Al no haber diferencias significativas en crecimiento y supervivencia en ninguno de los tratamientos se recomienda trabajar a una densidad de carga de 6000 alevines. m^3 en la inversión sexual de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con tecnología Biofloc.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abucay, J; Mair, G. 1997. Genetic manipulation of sex ratio for the large-scale production of all-male tilapia *Oreochromis niloticus*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 54(2): 396-404.
- Arellano, R. 2005. Evaluación de la proliferación de bulking en sistemas de tratamiento de lodos activos. Universidad del Bio-Bio. 124 p.
- Avnimelech, Y. 1999. Carbon/Nitrogen ratio as control element in aquaculture systems. Aquaculture. 176:227-235.
- Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. Acuacultural Engineering. 34: 172 – 178.
- Avnimelech, Y; Verdegem, M; Kurup, M; Keshavanath, P. 2008. Sustainable land-based aquaculture: Rational utilization of water, land and feed resources. Mediterranean Aquaculture Journal. 1(1):45-55.
- Avnimelech, Y. 2009. Biofloc Technology — A Practical Guide Book. 2 ed. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 272 pp.
- Avnimelech, Y. 2012. Biofloc Technology. A Practical Guide Book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 182 pp.
- Azim, ME; Little, DC. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 283(1-4): 29-35. Barbosa J, Brugiolo, S; Leitao, S. 2006. Heterogeneous growth fingerlings of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: efectos of density and initial size variability. Braz. J. Biol. 66(2A): 537-541.
- Barry, P; Marwah, A; Marwah, P 2007.- Stability of 17 α methyltestosterone in fish feed. *Journal Aquaculture*, 271: 523–529.

- Beardmore, JA; Mair, GC; Lewis, RI. 2001. Monosex male production in finfish as exemplified by Tilapia: applications, problems and prospects. *Aquaculture* 197, 283–301.
- Breine, JJ; Nguenga, D; Teugels, GG; Ollevier, F. (1996). A comparative study on the effect of stocking density and feeding regime on the growth rate of *Tilapia cameronensis* and *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) in fishculture in Cameroon. *Aquat. Living Resour.* 9:51-56.
- Borrovich, E. 2010. Efecto de la temperatura y aireación constante sobre el crecimiento y la supervivencia de alevines de *Oreochromis niloticus* (tilapia gris) y *Oreochromis spp* (tilapia roja) durante la inversión sexual. Tesis para optar el título de Ingeniero pesquero. UNALM. Perú. 79 p.
- Burford, M; Thompson, P; Mcintosh, R; Bauman, R; Pearson, D. 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232:525-537.
- Carbó, R; Celades, J. 2012. Ensayos preliminares de engorde de Tenca (*Tinca tinca*) con tecnología de biofloc. BRTA (Investigación y Tecnología Alimentaria).
- Clemens, HP; Inslee, T. 1968. The production of unisexual broods of *Tilapia mossambica* sex reversed with methyltestosterone. *Aquaculture*, 178:225-234.
- Correia, E; Wilkenfeld, J; Morris, T; Wei, L; Prangnell, D; Samocha, M. 2014. Intensive nursery production of the Pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei* using two commercial feeds with high and low protein content in a biofloc-dominated system. *Aquacultural Engineering* 59. 48-54.
- Crab, R; Kochva, M; Verstraete, W; Avnimelech, Y. 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquaculture Engineering* 40: 105-112.
- 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.
- Craig, S; Helfrich, L. 2002. Understanding Fish Nutrition, Feeds and Feeding (Publication 420–256). Virginia Cooperative Extension, Yorktown. 4 pp.

- Craig, L; Andrew, J; John, W; Avnimelech, Y. 2012. Biofloc-based Aquaculture Systems. Aquaculture Production Systems, First Edition. Edited by James Tidwell. 12:278-306.
- Cruz- Casallas, N; Marciales – Caro, L; Díaz- Olarte, J; Murillo-Pacheco, R; Medinarobles, V; Cruz- Casallas, P. 2010. Desempeño productivo del yaque (*Leiarius marmoratus* Gill, 1870) bajo diferentes densidades de siembra en estanques en tierra. Rev Colomb Cienc Pecu 2010. 23: 325-335.
- Desprez, D; Mélard, C. 1998. Effect of ambient water temperature on sex determinism in the blue tilapia *Oreochromis aureus*. Laboratory of Fish Demography and Aquaculture. University of Liège. Aquaculture 162:79-84.
- Delarete, C; Solis, L; Vicentini, B. 2009. Growth Survival of Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) Submitted to Different Temperatures During the Process of Sex Reversal. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 33, n. 3, p. 895-902.
- Eberling, H; Timmons, M; Bisogni, J. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry oh photoautrophic, autrophic and heterophic removal of ammonia – nitrogen in aquaculture sustems. Aquaculture.257:346-358.
- El-Sayed, A. 2006. Tilapia culture. CAB International, Wallingford, UK. 277 pp.
- Emerson, K; Russo, R; Lund, R; Thurston, R; 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. J Fish Res Board Can. 32:2379-2383.
- Emerenciano, M; Gaxiola, G; Cuzon, AG. 2012. Biofloc technology applied to shrimp broodstock. In: Avnimelech Y (ed). Biofloc technology -a practical guide book, pp. 217-230. The World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- Emerenciano, M; Cuzon, G; Arevalo, M; Gaxiola, G. 2013. Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. Aquaculture Research January 2013.
- FAO. 2014. Estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma. 253 p.

- Ferdous, Z; Masum, A; Ali, M. 2014. Influence of stocking density on growth performance and survival of monosex tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. Bangladesh. International of Research in Fisheries and Aquaculture 4(2): 99-103.
- Ferrari, L; Hayashi, C. 2001. Effect of feeding frequency on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fries performance during sex reversal in hapas. Acta Scientiarum 23(4): 871-876.
- FONDEPES.2004. Manual de cultivo de tilapia. Programa de transferencia de tecnología en acuicultura para pescadores artesanales y comunidades campesinas.(En línea). Perú. Consultado 13 oct. 2015. Disponible en http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manual_tilapia.pdf.
- Guerrero, RD. 1976. *Tilapia Mossambica* and *Tilapia zillii* treated with ethynyltestosterone for sex reversal. Freshwater Aquaculture Center, Central Luzon State Univesity, 178-192 pp.
- Hargreaves, J. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. Review. Aquaculture. 166 :181-212.
- Hargreaves, J. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. Aquaculture Engineering 34: 344-363.
- Hernández, J; Vargas, A. 2003. A microplate technique to quantify nutrients (NO₂, NO₃, NH₄ and PO₄) in seawater. Aquac Res. 34:1201-1204.
- Hargreaves, J. 2013. Biofloc Production System for Aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). N°4503.
- Homklin, S; Wattanodor, T; Kee-Ong, S; Limpiyakorn, T. 2009.- Biodegradation of 17 α -methyltestosterone and isolation of MT-degrading bacterium from sediment of Nile tilapia masculinization pond. *Journal Water Science & Technology*, 59 (2).
- Lim, C. 1997. Nutrition and feeding of Tilapias. In Fourth Symposium on Aquaculture in Central America: Focusing on and Tilapia. Tegucigalpa, Homduras. 107 p.

- Loyless, C; Malone, R. 1997. A sodium bicarbonate dosing methodology por pH Magnagement in freshwater – recirculating aquaculture systems, *The Progressive Fish – Culturist*. 59 (3):198-205.
- Macintosh, DJ; Little, DC. 1995. Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: N.R. Bromage and R.J. Roberts (Editors). *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science, London. p. 277-320.
- Macintosh, DJ. 2008. Risks associated with using methyl testosterone in tilapia farming (En línea). Consultado el 12 de agosto del 2016. Disponible en: http://media.sustainablefish.org/MT_WP.pdf.
- Manosroi, J; Petchjul, K; Manosroi, A. 2004. Effect of Fluoxymesterone Fish Feed Granule on Sex Reversal of the Hybrid, Thai Red Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn. x *Oreochromis mossambicus* Linn.). *Journal Asian Fisheries Science*, 17: 323-331.
- Marcillo, G; Landivar, Z. 2008. Tecnología de producción de alevinos monosexo de Tilapia. Experiencias adquiridas en el proyecto de investigación pisícola, en la estación experimental “El Chame” (ESPOL). Ecuador. 14-45 pp.
- Martinez, MA. 2006. Manual del cultivo de tilapia. (En línea). Managua, Nicaragua. Consultado 20 oct. 2015. Disponible en http://csptilapianayarit.org/informacion/Generalidades_del_cultivo_de_Tilapia.pdf.
- Mejía, C. 2014. Dinámica del nitrógeno en bioreactores de un sistema de producción de alevinos macho de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con tecnología biofloc. Tesis para optar el título de Ingeniero pesquero. UNALM. Perú. Pág 90.
- Meyer, D. 2004 *Introducción a la acuicultura*. EAP Zamorano, Honduras. 159 pp.
- Murray, R; Larry, J. 2009. *Estadística*. 4ta Edición. Mac Graw – Hill. México, DF.
- Nakamura, M; Chang, T; Kobayashi, T; Nagahama, Y. 1970. Gonadal sex Differentiation in fish. *J. Exp. Zool.*, 281, pp. 1–13.
- Nakamura, M. 1975. Dosage-dependet changes in the effect or oral administration of methyltestosterone on gonodal sex differentiation in *tilapia mossambica*.

Laboratory of freshwater fish culture, faculty of fisheries, Hokkaido University
Bull. Fac. Fish Hokkaido. Univ. 99-108 pp.

- Naylor, RL; Goldberg, RJ; Primavera, JH; Kautsky, N; Beveridge, MCM; Clay, J; Folke, C; Lubchenco, J; Mooney, H; Troell, M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017–1024.
- Orozco, FE. 1998. Comparación del crecimiento temprano de tres líneas de Tilapia (*Oreochromis sp.*). Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Zamorano. Honduras. Pág. 33.
- Osofero, SA; Otubusin, SO; Daramola, JA. 2009. Effect of stocking density on tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) growth and survival in bamboo – net cages trial. *Afr. J. Biotechnol.* 8(7):1322- 1325.
- Penman, DJ; McAndrew, BJ. 2000. Genetics for the management and improvement of cultured tilapia. In: Beveridge, M.C.M., McAndrew, B.J. (Eds.), *Tilapias: Biology and Exploitation*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London, pp. 227–266.
- Phelps, RP; Okoko, M. 2011. A non-paradoxical dose response to 17 α -methyltestosterone by Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (L.): effects on the ratio, growth and gonadal development. *Aquaculture Research* 42, 549 – 558.
- Phelps, RP; Poma, TJ. 2000. Sex reversal of tilapia, *Tilapia Aquaculture in the Americas*, Vol 2. 34-59.
- Piedrahita, RH. 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture* 226, 35–44.
- Poleo, G; Arranbarrio, 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.
- Poot, DC; Hernández, HM. 2009. El cultivo integral de tilapia. Centro de estudios técnicos de mar y fundación produce Campeche, A.C.

- Popma, TJ; Green, B. 1990. Manual de producción Acuícola: reversión sexual de tilapias en lagunas de tierra. International Center of Aquaculture. Director Auburn University. Alabama. U.S.A. Serien N°35:30 pp.
- Ramírez, S. 2015. Evaluación de la inversión sexual de tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) bajo un sistema de bioflocs. Tesis para optar el título de Ingeniero pesquero. UNALM. Perú. Pág 53.
- Ray, A; Seaborn, G; Leffer, J; Wilde, S; Lawson, A; Browdy, C. 2010. Characterization of Microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*. 310: 130-138.
- Read, P; Fernandes, T. 2003. Management of environmental impacts of marine aquaculture in Europe. *Aquaculture* 226, 139–163.
- Ricker, W. (1979). Growth rates and models. 677-743 pp En: W. Hoar, D. Randall, J. Brett, editors. *Fish Physiology*. Volume VIII; Bioenergetics and Growth. Academic Press, New York, USA.
- Saavedra, MA. 2006. Manejo del cultivo de tilapia. Coordinación de acuicultura, departamento de ciencias ambientales y agrarias, Managua, Nicaragua. 34- 45pp.
- Sanches, LE; Hayashi, C. 2001. Effect of feeding frequency on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fries performance during sex reversal in hapas. *Maringá* 23, 871-876.
- Shelton, WL.; Hopkins, KD; Jensen, GL. 1978. Use of hormones to produce monosex tilapia for aquaculture. *Culture of exotic fishes Symposium proceeding*. Am. Fisf. Soc. Auburn. Alabama. 39-354 pp.
- Sugiura, SH; Marchant, DD; Wiggins, T; Ferraris, RP. 2006. Effluent profile of commercially used low-phosphorus fish feeds. *Environmental Pollution* 140, 95–101.
- Tachibana, L; Castagnoli, N; Pezzato, LE; Barros, MM; De Barros-Valle, J; Siqueira, MR. 2004. Desempenho de diferentes linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. *Maringá*, 26 (3): 305-311.
- Tetteh -Doku, E; Klenam, F; Ashun-Johnson, M. 2013. Effect of different stocking densities on growth performance and profitability of *Oreochromis niloticus* fry

reader in hapa-in-pond system. *Internacional Journal of Fisheries and Aquaculture*. Vol. 5(8), pp. 204-209.

Timmons, MB; Ebeling, JM; Wheaton, FW; Summerfelt, ST; Vinci, BJ; 2002. *Recirculating Aquaculture Systems*, 2nd ed., vol. 01-002. NRAC Publication.

Valbuena, R; Cruz, C. 2006. Efecto del peso corporal y temperatura del agua sobre el consumo de oxígeno de tilapia roja (*Oreochromis sp*). *Orinoquia*. 10(1):57–63.

Vera, Em; Mair, GC. 1993. Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 122, 237-248.

Wattanabe, WO; Wicklund, RI; Olla, BL; Head, HW. 1997. Saltwater culture of the florida red tilapia and other saline-tolerant tilapias: A review. *World Acuaculture Soc.* 1:54-141.

Yasui, GS; Dos Santos, LC; Shimoda, E; Pinto-Ribeiro-Filho, O; Calado, LL; Saraiva-Freitas, A; Vazquez-Vidal, J; Barile-Ferreira, E. 2007. Masculinização de três linhagens de tilapias do Nilo utilizando o andrógeno sintético 17- α -metil-testosterona. *Journal Zootecnia Tropical*, 25 (4):307-310.

Yousif, OM. 2002. The effects of stocking density, water exchange rate, feeding frequency and grading on size hierarchy development in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Emir. J. Agric. Sci.* 14:45-53.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Resultados de ANOVA para el parámetro Oxígeno disuelto

Obs	TRAT	oxSEM1	oxSEM2	oxSEM3	oxSEM4
1	D1SD	6.98667	6.98833	6.83667	6.87750
2	D1SD	7.00111	7.03667	6.79333	6.81833
3	D1SD	6.94278	7.02389	6.96889	6.83583
4	D2CD	6.91333	7.10056	7.04000	7.17333
5	D2CD	7.10611	6.95167	7.08333	6.83125
6	D2CD	6.89778	7.07944	7.08556	7.04958
7	D2SD	7.01944	7.01611	7.13333	7.09750
8	D2SD	6.92389	7.06778	6.92000	6.86458
9	D2SD	6.85611	7.05833	6.90556	6.71333
10	D3CD	7.05500	7.05056	7.10556	7.17042
11	D3CD	7.10944	7.08556	7.09333	6.89000
12	D3CD	6.84111	7.07500	6.91222	6.98708
13	D3SD	7.18667	7.10111	7.05111	6.96625
14	D3SD	7.01722	7.01278	6.81889	6.93375
15	D3SD	6.97056	6.94278	6.85667	6.84458

DCA: OXIGENO

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	D1SD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read 15
 Number of Observations Used 15

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: oxSEM1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.02546284	0.00636571	0.59	0.6792
Error	10	0.10835226	0.01083523		
Corrected Total	14	0.13381510			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	oxSEM1 Mean
0.190284	1.489485	0.104092	6.988481

Dependent Variable: oxSEM2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.00599374	0.00149844	0.52	0.7254
Error	10	0.02898395	0.00289840		
Corrected Total	14	0.03497770			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	oxSEM2 Mean
0.171359	0.764795	0.053837	7.039370

Dependent Variable: oxSEM3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.08732626	0.02183156	2.08	0.1588
Error	10	0.10507737	0.01050774		
Corrected Total	14	0.19240362			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	oxSEM3 Mean
0.453870	1.469927	0.102507	6.973630

Dependent Variable: oxSEM4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.07196095	0.01799024	0.97	0.4649
Error	10	0.18524595	0.01852459		
Corrected Total	14	0.25720690			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	oxSEM4 Mean
0.279778	1.962048	0.136105	6.936889

ANEXO 2: Resultados de ANOVA para el parámetro temperatura

DCA: TEMPERATURA

Obs	TRAT	TSEM1	TSEM2	TSEM3	TSEM4
1	D1SD	28.0389	28.1167	27.9556	27.7958
2	D1SD	28.4278	28.3222	28.9556	28.3917
3	D1SD	28.7056	28.4500	28.8667	28.6375
4	D2CD	28.1278	28.0167	28.2000	27.5625
5	D2CD	28.0278	28.5000	28.1000	28.5542
6	D2CD	28.7333	27.7889	28.2444	28.0042
7	D2SD	27.7444	28.2278	27.8000	27.7750
8	D2SD	29.0333	28.2333	28.6889	28.3083
9	D2SD	29.0944	28.2944	28.7000	28.4833
10	D3CD	28.1167	27.9167	27.4889	27.4708
11	D3CD	27.6833	27.5944	27.4333	27.9667
12	D3CD	28.8722	27.9111	28.2889	28.0083
13	D3SD	27.6333	27.9778	27.5222	27.5208
14	D3SD	28.0111	27.9222	28.2333	27.6875
15	D3SD	28.1167	28.3778	27.9889	27.6208

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	D1SD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read 15
 Number of Observations Used 15

Dependent Variable: TSEM1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.78827983	0.19706996	0.78	0.5639
Error	10	2.53146091	0.25314609		
Corrected Total	14	3.31974074			

R-Square 0.237452
 Coeff Var 1.778425
 Root MSE 0.503136
 TSEM1 Mean 28.29111

Dependent Variable: TSEM2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.44027984	0.11006996	2.14	0.1503
Error	10	0.51460905	0.05146091		
Corrected Total	14	0.95488889			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	TSEM2 Mean
0.461080	0.807008	0.226850	28.11000

Dependent Variable: TSEM3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	1.44704528	0.36176132	1.93	0.1823
Error	10	1.87646091	0.18764609		
Corrected Total	14	3.32350619			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	TSEM3 Mean
0.435397	1.538043	0.433181	28.16444

Dependent Variable: TSEM4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.89508565	0.22377141	1.68	0.2307
Error	10	1.33344908	0.13334491		
Corrected Total	14	2.22853473			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	TSEM4 Mean
0.401648	1.304818	0.365164	27.98583

ANEXO 3: Resultados de ANOVA y de la prueba de Tukey para el parámetro potencial de hidrógeno

DCA: pH

Obs	TRAT	pH1SEM	pH2SEM	pH3SEM	pH4SEM
1	D1SD	8.41444	8.51167	8.2787	8.30250
2	D1SD	8.41722	8.54167	8.3389	8.38150
3	D1SD	8.40889	8.52000	8.4256	8.43100
4	D2CD	8.34056	8.49389	8.4066	8.40646
5	D2CD	8.44278	8.53278	8.4734	8.37688
6	D2CD	8.40111	8.48778	8.4620	8.47154
7	D2SD	8.37667	8.51500	8.4489	8.47592
8	D2SD	8.41778	8.53778	8.3941	8.40992
9	D2SD	8.39778	8.49944	8.3764	8.26458
10	D3CD	8.38389	8.39500	8.2828	8.41004
11	D3CD	8.42111	8.44556	8.2254	8.30625
12	D3CD	8.36000	8.46778	8.2794	8.43800
13	D3SD	8.41722	8.46389	8.2298	8.29875
14	D3SD	8.40167	8.45111	8.2261	8.25988
15	D3SD	8.38222	8.47500	8.2879	8.24000

DCA: pH

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	D1SD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read 15
 Number of Observations Used 15

Dependent Variable: pHSEM1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.00103930	0.00025983	0.30	0.8718
Error	10	0.00867737	0.00086774		
Corrected Total	14	0.00971667			

R-Square 0.106961
 Coeff Var 0.350729
 Root MSE 0.029457
 pH1SEM Mean 8.398889

Dependent Variable: pHSEM2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.01730749	0.00432687	7.89	0.0039
Error	10	0.00548251	0.00054825		
Corrected Total	14	0.02279000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pHSEM2 Mean
0.759434	0.275818	0.023415	8.489222

Dependent Variable: pHSEM3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.09133987	0.02283497	10.98	0.0011
Error	10	0.02079511	0.00207951		
Corrected Total	14	0.11213498			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pHSEM3 Mean
0.814553	0.546625	0.045602	8.342400

Dependent Variable: pHSEM4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.04012801	0.01003200	2.09	0.1564
Error	10	0.04789538	0.00478954		
Corrected Total	14	0.08802339			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pHSEM4 Mean
0.455879	0.827346	0.069206	8.364881

DCA: pH

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for pHSEM1

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	0.000868
Critical Value of Studentized Range	4.65429

Minimum Significant Difference 0.0792

Means with the same letter are not significantly different.

Turkey grouping

	Mean	N	TRAT
A	8.41352	3	D1SD
A			
A	8.40037	3	D3SD
A			
A	8.39741	3	D2SD
A			
A	8.39481	3	D2CD
A			
A	8.38833	3	D3CD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for pHSEM2

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	0.000548
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	0.0629

Turkey grouping

	Mean	N	TRAT	
A	8.52444	3	D1SD	
A				
A	8.51741	3	D2SD	
A				
A	8.50481	3	D2CD	
A				
B	A	8.46333	3	D3SD
B				
B		8.43611	3	D3CD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for pHSEM3

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	0.00208
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	0.1225

Tukey Grouping

	Mean	N	TRAT	
A	8.44733	3	D2CD	
A				
A	8.40647	3	D2SD	
A				
B	A	8.34773	3	D1SD
B				
B		8.26253	3	D3CD
B				
B		8.24793	3	D3SD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for pHSEM4

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	0.00479
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	0.186

Tukey Grouping			
	Mean	N	TRAT
A	8.41829	3	D2CD
A			
A	8.38476	3	D3CD
A			
A	8.38347	3	D2SD
A			
A	8.37167	3	D1SD
A			
A	8.26621	3	D3SD

ANEXO 4: Resultados de ANOVA y de la prueba de Tukey para el parámetro alcalinidad.

Obs	TRAT	ALSEM1	ALSEM2	ALSEM3	ALSEM4
1	D1SD	100	150	128	74
2	D1SD	92	148	108	64
3	D1SD	96	132	120	82
4	D2CD	112	116	128	80
5	D2CD	96	120	136	72
6	D2CD	96	112	124	88
7	D2SD	96	116	116	78
8	D2SD	88	116	124	86
9	D2SD	100	120	108	76
10	D3CD	128	104	88	74
11	D3CD	112	132	92	68
12	D3CD	100	140	72	78
13	D3SD	112	132	92	72
14	D3SD	92	132	92	60
15	D3SD	92	116	96	44

DCA: ALCALINIDAD
The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	D1SD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read 15
Number of Observations Used 15

Dependent Variable: ALSEM1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	667.733333	166.933333	1.78	0.2097
Error	10	938.666667	93.866667		
Corrected Total	14	1606.400000			

R-Square 0.415671
Coeff Var 9.611588
Root MSE 9.688481
ALSEM1 Mean 100.8000

Dependent Variable: ALSEM2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	1428.266667	357.066667	3.18	0.0627
Error	10	1122.666667	112.266667		
Corrected Total	14	2550.933333			

R-Square 0.559900
Coeff Var 8.427039
Root MSE 10.59560
ALSEM2 Mean 125.7333

Dependent Variable: ALSEM3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	4270.933333	1067.733333	16.68	0.0002
Error	10	640.000000	64.000000		
Corrected Total	14	4910.933333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ALSEM3 Mean
0.869679	7.389163	8.000000	108.2667

Dependent Variable: ALSEM4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	910.933333	227.733333	2.88	0.0800
Error	10	792.000000	79.200000		
Corrected Total	14	1702.933333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ALSEM4 Mean
0.534920	12.17989	8.899438	73.06667

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for ALSEM1

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	93.86667
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	26.034

Means with the same letter are not significantly different.
 Turkey grouping

	Mean	N	TRAT
A	113.333	3	D3CD
A			
A	101.333	3	D2CD
A			
A	98.667	3	D3SD
A			
A	96.000	3	D1SD
A			
A	94.667	3	D2SD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for ALSEM2

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	112.2667

Critical Value of Studentized Range 4.65429
 Minimum Significant Difference 28.472

Turkey grouping

	Mean	N	TRAT
A	143.333	3	D1SD
A			
A	126.667	3	D3SD
A			
A	125.333	3	D3CD
A			
A	117.333	3	D2SD
A			
A	116.000	3	D2CD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for ALSEM3

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 10
 Error Mean Square 64
 Critical Value of Studentized Range 4.65429
 Minimum Significant Difference 21.497

Turkey grouping

	Mean	N	TRAT
A	129.333	3	D2CD
A			
A	118.667	3	D1SD
A			
A	116.000	3	D2SD
B	93.333	3	D3SD
B			
B	84.000	3	D3CD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for ALSEM4

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 10
 Error Mean Square 79.2
 Critical Value of Studentized Range 4.65429
 Minimum Significant Difference 23.914

Turkey grouping

	Mean	N	TRAT
A	80.000	3	D2SD
A			
A	80.000	3	D2CD
A			
A	73.333	3	D1SD
A			
A	73.333	3	D3CD
A			
A	58.667	3	D3SD

ANEXO 5: Resultados de ANOVA y de la prueba de Tukey para el parámetro sólidos sedimentables

Obs	TRAT	SSSEM1	SSSEM2	SSSEM3	SSSEM4
1	D1SD	7.50	12.8333	19.4	25.2857
2	D1SD	15.50	17.5000	20.2	24.5714
3	D1SD	15.00	17.8333	19.8	24.7143
4	D2CD	12.00	17.3333	19.6	26.2857
5	D2CD	7.50	12.6667	18.8	25.8571
6	D2CD	17.50	18.3333	19.4	25.4286
7	D2SD	10.00	18.5000	20.8	26.0000
8	D2SD	17.00	19.6667	21.0	26.4286
9	D2SD	15.00	20.0000	21.0	35.0000
10	D3CD	13.50	17.8333	19.0	28.5714
11	D3CD	9.50	14.3333	22.8	39.8571
12	D3CD	17.00	18.1667	17.4	26.7143
13	D3SD	9.75	15.1667	22.4	37.5714
14	D3SD	9.50	16.0000	25.4	31.1429
15	D3SD	18.50	18.8333	23.6	36.1429

DCA: Solidos sedimentables
The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	D1SD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read 15
Number of Observations Used 15

DCA: Solidos sedimentables
The ANOVA Procedure
Dependent Variable: SSSEM1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	5.5166667	1.3791667	0.07	0.9897
Error	10	197.0416667	19.7041667		
Corrected Total	14	202.5583333			

R-Square 0.027235 Coeff Var 34.18951 Root MSE 4.438938 SSSEM1 Mean 12.98333

Dependent Variable: SSSEM2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	22.64814818	5.66203705	1.10	0.4091
Error	10	51.57407403	5.15740740		
Corrected Total	14	74.22222222			

R-Square 0.305140 Coeff Var 13.35878 Root MSE 2.270993 SSSEM2 Mean 17.00000

Dependent Variable: SSSEM3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	40.38933333	10.09733333	4.89	0.0191
Error	10	20.64000000	2.06400000		
Corrected Total	14	61.02933333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	SSSEM3 Mean
0.661802	6.938165	1.436663	20.70667

Dependent Variable: SSSEM4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	208.1850339	52.0462585	2.95	0.0750
Error	10	176.1768709	17.6176871		
Corrected Total	14	384.3619047			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	SSSEM4 Mean
0.541638	14.32307	4.197343	29.30476

DCA: Solidos sedimentables

The ANOVA Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for SSSEM1

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	19.70417
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	11.928

Means with the same letter are not significantly different.

Turkey Grouping	Mean	N	TRAT
A	14.000	3	D2SD
A	13.333	3	D3CD
A	12.667	3	D1SD
A	12.583	3	D3SD
A	12.333	3	D2CD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for SSSEM2

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	5.157407
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	6.1025

Turkey Grouping

	Mean	N	TRAT
A	19.389	3	D2SD
A			
A	16.778	3	D3CD
A			
A	16.667	3	D3SD
A			
A	16.111	3	D2CD
A			
A	16.056	3	D1SD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for SSSEM3

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	2.064
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	3.8605

Turkey Grouping

	Mean	N	TRAT
A	23.800	3	D3SD
A			
B	20.933	3	D2SD
B			
B	19.800	3	D1SD
B			
B	19.733	3	D3CD
B			
B	19.267	3	D2CD

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for SSSEM4

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	17.61769
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	11.279

Turkey Grouping

	Mean	N	TRAT
A	34.952	3	D3SD
A			
A	31.714	3	D3CD
A			
A	29.143	3	D2SD
A			
A	25.857	3	D2CD
A			
A	24.857	3	D1SD

ANEXO 6: Resultados de ANOVA para el parámetro nitrógeno amoniacal total

Obs	TRAT	AMSEM1	AMSEM2	AMSEM3	AMSEM4
1	D1SD	0.38	0.81	0.68	0.87
2	D1SD	0.69	0.61	0.33	0.82
3	D1SD	0.23	0.73	0.42	0.76
4	D2CD	0.80	0.15	0.56	0.95
5	D2CD	0.45	0.56	0.32	0.90
6	D2CD	0.67	0.45	0.48	0.68
7	D2SD	0.53	0.69	0.11	0.78
8	D2SD	0.44	0.58	0.27	0.75
9	D2SD	0.75	0.67	0.50	0.86
10	D3CD	0.54	0.56	1.37	0.86
11	D3CD	0.27	0.67	0.82	0.88
12	D3CD	0.99	0.52	0.41	0.83
13	D3SD	0.18	0.65	0.63	0.91
14	D3SD	0.44	0.94	0.39	0.99
15	D3SD	0.50	0.61	0.45	0.81

DCA: AMONIO

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	D1SD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read 15
 Number of Observations Used 15

Dependent Variable: AMSEM1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.15776000	0.03944000	0.72	0.5961
Error	10	0.54600000	0.05460000		
Corrected Total	14	0.70376000			

R-Square 0.224167 Coeff Var 44.59283 Root MSE 0.233666 AMSEM1 Mean 0.524000

Dependent Variable: AMSEM2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TART	4	0.23540000	0.05885000	3.03	0.0705
Error	10	0.19413333	0.01941333		
Corrected Total	14	0.42953333			

R-Square 0.548037 Coeff Var 22.71713 Root MSE 0.139332 AMSEM2 Mean 0.613333

Dependent Variable: AMSEM3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.53609333	0.13402333	2.01	0.1696
Error	10	0.66806667	0.06680667		
Corrected Total	14	1.20416000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	AMSEM3 Mean
0.445201	50.09106	0.258470	0.516000

Dependent Variable: AMSEM4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.02000000	0.00500000	0.70	0.6088
Error	10	0.07133333	0.00713333		
Corrected Total	14	0.09133333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	AMSEM4 Mean
0.218978	10.01491	0.084459	0.843333

ANEXO 7: Resultados de ANOVA para el parámetro nitrito (N-NO₂)

Obs	TRAT	NISEM1	NISEM2	NISEM3	NISEM4
1	D1SD	0.042	0.007	0.046	0.038
2	D1SD	0.020	0.005	0.038	0.036
3	D1SD	0.043	0.010	0.064	0.048
4	D2CD	0.030	0.006	0.025	0.045
5	D2CD	0.050	0.007	0.048	0.032
6	D2CD	0.032	0.005	0.047	0.055
7	D2SD	0.039	0.009	0.037	0.046
8	D2SD	0.056	0.006	0.039	0.033
9	D2SD	0.032	0.007	0.029	0.044
10	D3CD	0.035	0.007	0.052	0.063
11	D3CD	0.027	0.005	0.023	0.040
12	D3CD	0.067	0.006	0.029	0.040
13	D3SD	0.039	0.006	0.047	0.048
14	D3SD	0.036	0.007	0.056	0.043
15	D3SD	0.102	0.008	0.040	0.051

DCA: NITRITO

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	D1SD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read 15
 Number of Observations Used 15

Dependent Variable: NISEM1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.00105600	0.00026400	0.58	0.6847
Error	10	0.00455933	0.00045593		
Corrected Total	14	0.00561533			

R-Square 0.188057
 Coeff Var 49.27522
 Root MSE 0.021353
 NISEM1 Mean 0.043333

Dependent Variable: NISEM2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.00000560	0.00000140	0.60	0.6712
Error	10	0.00002333	0.00000233		
Corrected Total	14	0.00002893			

R-Square 0.193548
 Coeff Var 22.68602
 Root MSE 0.001528
 NISEM2 Mean 0.006733

Dependent Variable: NISEM3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.00057133	0.00014283	1.06	0.4245
Error	10	0.00134600	0.00013460		
Corrected Total	14	0.00191733			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NISEM3 Mean
0.297983	28.06869	0.011602	0.041333

Dependent Variable: NISEM4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.00013373	0.00003343	0.40	0.8032
Error	10	0.00083200	0.00008320		
Corrected Total	14	0.00096573			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NISEM4 Mean
0.138479	20.66783	0.009121	0.044133

ANEXO 8: Resultados de ANOVA para el parámetro nitrato (N-NO₃).

Obs	TRAT	NASEM1	NASEM2	NASEM3	NASEM4
1	D1SD	43.2	9.3	46.9	65.7
2	D1SD	29.9	47.6	49.8	54.3
3	D1SD	40.4	138.8	47.9	65.2
4	D2CD	42.8	71.5	42.0	62.0
5	D2CD	32.5	6.9	51.6	57.8
6	D2CD	42.5	51.3	62.5	76.4
7	D2SD	18.9	23.0	38.3	43.2
8	D2SD	39.9	51.3	50.0	53.4
9	D2SD	28.1	60.0	67.9	67.4
10	D3CD	37.9	79.6	73.1	80.2
11	D3CD	42.6	12.9	51.0	51.3
12	D3CD	36.0	58.3	46.9	56.7
13	D3SD	39.1	70.9	62.7	65.4
14	D3SD	44.1	32.7	44.7	41.2
15	D3SD	11.3	83.8	54.9	60.1

DCA: NITRATO

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	D1SD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read 15
 Number of Observations Used 15

Dependent Variable: NASEM1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	267.557333	66.889333	0.65	0.6426
Error	10	1036.326667	103.632667		
Corrected Total	14	1303.884000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NASEM1 Mean
0.205200	28.85491	10.18001	35.28000

Dependent Variable: NASEM2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	1229.19600	307.29900	0.20	0.9338
Error	10	15517.77333	1551.77733		
Corrected Total	14	16746.96933			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NASEM2 Mean
0.073398	74.05553	39.39261	53.19333

Dependent Variable: NASEM3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	124.630667	31.157667	0.26	0.8997
Error	10	1219.413333	121.941333		
Corrected Total	14	1344.044000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NASEM3 Mean
0.092728	20.96185	11.04270	52.68000

Dependent Variable: NASEM4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	263.197333	65.799333	0.48	0.7487
Error	10	1364.406667	136.440667		
Corrected Total	14	1627.604000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	NASEM4 Mean
0.161708	19.46148	11.68078	60.02000

ANEXO 9: Resultados de ANOVA y la prueba de Tukey para la variable Crecimiento.

Obs	TRAT	CREC
1	D1SD	0.218
2	D1SD	0.211
3	D1SD	0.177
4	D2CD	0.235
5	D2CD	0.151
6	D2CD	0.179
7	D2SD	0.122
8	D2SD	0.185
9	D2SD	0.230
10	D3CD	0.144
11	D3CD	0.185
12	D3CD	0.138
13	D3SD	0.126
14	D3SD	0.153
15	D3SD	0.112

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	5	DISD D2CD D2SD D3CD D3SD

Number of Observations Read	15
Number of Observations Used	15

Dependent Variable: CREC

Sum of Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	4	0.01160307	0.00290077	1.36	0.3159
Error	10	0.02138667	0.00213867		
Corrected Total	14	0.03298973			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CREC Mean
0.351718	26.40601	0.046246	0.175133

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for CREC

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	10
Error Mean Square	0.002139
Critical Value of Studentized Range	4.65429
Minimum Significant Difference	0.1243
Tukey Grouping	

	Mean	N	TRAT
A	0.20200	3	D1SD
A	0.18833	3	D2CD
A	0.17891	3	D2SD
A	0.15567	3	D3CD
A	0.13033	3	D3SD

ANEXO 10: Resultados de ANOVA y la prueba de Tukey para la variable sobrevivencia.

Obs	TRAT	SUPERVPORCEN	SUPERVPORCENT
1	D1SD	74.2	1.03801
2	D1SD	91.7	1.27856
3	D1SD	94.2	1.32757
4	D2SD	91.9	1.28220
5	D2SD	74.4	1.04030
6	D2SD	99.4	1.49326
7	D3SD	85.4	1.17873
8	D3SD	86.7	1.19749
9	D3SD	78.8	1.09231

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRAT	3	D1SD D2SD D3SD

Number of Observations Read 9
 Number of Observations Used 9

Dependent Variable: SUPERVPORCENT

Sum of Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
TRAT	2	0.02009474	0.01004737	0.38	0.6969
Error	6	0.15707874	0.02617979		
Corrected Total	8	0.17717348			

R-Square 0.113418 Coeff Var 13.32502 Root MSE 0.161802 SUPERVPORCENT Mean 1.214270

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for SUPERVPORCENT

Alpha 0.05
 Error Degrees of Freedom 6
 Error Mean Square 0.02618
 Critical Value of Studentized Range 4.33902
 Minimum Significant Difference 0.4053

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping

	Mean	N	TRAT
A	1.2719	3	D2SD
A	1.2147	3	D1SD
A	1.1562	3	D3SD