



**UNIVERSIDAD ESTATAL  
PENÍNSULA DE SANTA ELENA**

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

**“DINÁMICA DEL BIOFLOC EN CULTIVO INTENSIVO DE POST- LARVA  
DEL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* EN UN SISTEMA DE  
RACEWAYS, TAURA - 2013”.**

**TESIS DE GRADO**

Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO MARINO**

AUTORA:

LILIANA ANGELITA MERCHÁN PÉREZ

TUTORA:

BLGA. MARITA MONSERRATE M.SC.

LA LIBERTAD – ECUADOR  
2014



**UNIVERSIDAD ESTATAL  
PENÍNSULA DE SANTA ELENA**

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

**“DINÁMICA DEL BIOFLOC EN CULTIVO INTENSIVO DE POST- LARVA  
DEL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* EN UN SISTEMA DE  
RACEWAYS, TAURA - 2013”.**

**TESIS DE GRADO**

Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO MARINO**

AUTORA:

LILIANA ANGELITA MERCHÁN PÉREZ

TUTORA:

BLGA. MARITA MONSERRATE M.SC.

LA LIBERTAD – ECUADOR  
2014

**UNIVERSIDAD ESTATAL  
PENINSULA DE SANTA ELENA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA**

**“DINÁMICA DEL BIOFLOC EN CULTIVO INTENSIVO DE POST- LARVA  
DEL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* EN UN SISTEMA DE  
RACEWAYS, TAURA - 2013”.**

**TESIS DE GRADO**

Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO MARINO**

AUTORA:  
LILIANA MERCHÁN PÉREZ.

TUTORA:  
BLGA. MARITA MONSERRATE M.SC.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2014

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

“La responsabilidad por las investigaciones, resultados y discusiones en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Estatal Península de Santa Elena”.

Liliana Merchán Pérez

## **DEDICATORIA**

A **Dios**, mi fortaleza, quien me mantuvo con su amor y protección todo el tiempo permitiéndome estar firme en el tren de la vida. A mis padres Darío y Mercy, a ellos con todo mi corazón, por su apoyo incondicional; a mi hija Emily por su amor y paciencia que me mantuvo durante mi ausencia; y a mis hermanos que depositaron su confianza en mí, que pusieron su granito de arena para que este trabajo sea posible, sin ustedes este logro no hubiera sido posible.

Mil gracias

Liliana Merchán.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a mi Guía espiritual, Dios que siempre ilumina mi mente, mi corazón, mi alma y mi espíritu a través de su palabra con sabiduría e inteligencia para poder cumplir cada una de mis metas.

A la Universidad Estatal Península de Santa Elena y Facultad Ciencias del Mar, a nuestro Decano Ing. Gonzalo Tamayo.

Al Biólogo Richard Duque por ser guía y consejero en todo este proceso.

A la Bióloga Marita Monserrate, por el apoyo brindado de forma directa e indirecta en este proceso de tesis, por todas las sugerencias, por su sencillez, por todo.

A los Ingenieros Ubel Tamayo y Ana Acuña, por su amistad incondicional, por compartir sus conocimientos profesionales, sus experiencias en el campo de la investigación.

A todas aquellas personas que me brindaron su amistad y mil disculpas a quienes mereciéndolo he omitido involuntariamente.

## TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

---

Ing. Gonzalo Tamayo Castañeda.

Decano Facultad Ciencias del Mar

---

Blgo. Richard Duque Marín M.Sc

Director de Escuela Biología M.

---

Acuic. Sonnya Mendoza Esp.

Profesor del Área

---

Blga. Marita Monserrate M.Sc.

Profesor Tutor

---

Ab. Milton Zambrano Coronado

Secretario General-Procurador

## INDICE GENERAL

|                                    |        |
|------------------------------------|--------|
| DECLARACIÓN EXPRESA .....          | IV     |
| DEDICATORIA .....                  | V      |
| AGRADECIMIENTO .....               | VI     |
| TRIBUNAL DE GRADUACIÓN .....       | VII    |
| INDICE GENERAL.....                | VIII   |
| INDICE DE TABLAS .....             | XIV    |
| INDICE DE FIGURAS.....             | XV     |
| INDICE DE GRÁFICOS.....            | XVII   |
| GLOSARIO .....                     | XX     |
| SIMBOLOGÍA Y ABREVIATURAS.....     | XXV    |
| RESUMEN.....                       | XXVII  |
| ABSTRACT .....                     | XXVIII |
| CAPÍTULO I.....                    | 1      |
| INTRODUCCIÓN .....                 | 1      |
| 1.2 JUSTIFICACIÓN.....             | 3      |
| 1.3 OBJETIVOS.....                 | 6      |
| 1.3.1 OBJETIVO GENERAL:.....       | 6      |
| 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS: ..... | 6      |
| 1.4 HIPÓTESIS .....                | 7      |
| 1.4.1 Ha:.....                     | 7      |
| 1.4.2 Ho: .....                    | 7      |

|   |    |
|---|----|
| CAPÍTULO II .....   | 8  |
| MARCO TEORICO .....   | 8  |
| 2.1 Tecnología de biofloc .....   | 8  |
| 2.2 Composición del biofloc. ....                                       | 11 |
| 2.3 Valor nutritivo de bioflocs.....                                    | 12 |
| 2.4 Desarrollo comercial de la tecnología biofloc.....                  | 12 |
| 2.5 Sistema de biofloc .....  | 13 |
| 2.5.1 Tipos básicos de sistemas bioflocs para la acuicultura.....       | 14 |
| 2.5.2 La mezcla y aireación.....  | 15 |
| 2.5.3 Dinámica de amoníaco.....   | 16 |
| 2.5.4 Asimilación bacteriana .....                                      | 17 |
| 2.5.5 Nitrificación .....   | 18 |
| 2.5.7 Manejo de sólidos. ....   | 20 |
| 2.5.8 Manejo de la alcalinidad.....                                     | 20 |
| 2.5.9 Fito y zooplancton en sistema de biofloc.....                     | 21 |
| 2.6 Generalidades del camarón blanco <i>Litopennaeus vannamei</i> ..... | 22 |
| 2.6.1 Taxonomía de la especie en estudio. ....                          | 22 |
| 2.6.2 Ciclo de vida del camarón. ....                                   | 22 |
| 2.6.2.1 Estadíos larvales. ....   | 23 |
| 2.7 Variables físicas. ....   | 24 |
| 2.7.1 Temperatura. ....   | 24 |
| 2.7.2 Salinidad. ....   | 24 |
| 2.8 Variables químicos. ....  | 25 |

|  |    |
|--|----|
| 2.8.1 Oxígeno disuelto.....  | 25 |
| 2.8.2 pH.....  | 25 |
| 2.8.3 Alcalinidad.....   | 26 |
| 2.8.4 Calidad de agua en sistemas con técnica de biofloc.....                | 26 |
| 2.8.5 Pruebas de estrés. ....  | 27 |
| 2.8.6. Vibriosis, enfermedad bacteriana causada por <i>Vibrios sp.</i> ..... | 28 |
| CAPÍTULO III.....  | 29 |
| MARCO METODOLÓGICO.....  | 29 |
| 3.1 Área de estudio.....   | 29 |
| 3.2 Diseño y manejo del cultivo.....   | 29 |
| 3.3 Desinfección.....  | 30 |
| 3.4 Llenado y fertilización.....   | 30 |
| 3.5 Puntos de control durante la preparación del Bioflocs.....               | 31 |
| 3.6 Recepción de larva en la Camaronera y aclimatación.....                  | 31 |
| 3.7 Siembra.....   | 32 |
| 3.8 Alimentación. ....   | 32 |
| 3.9 Cálculo de la cantidad diaria de melaza. ....                            | 33 |
| 3.10 Análisis de medición. ....  | 34 |
| 3.10.1 Parámetros Físicos.....   | 34 |
| 3.10.2 Parámetros químicos.....  | 34 |
| 3.11 Indicadores de desempeño del camarón.....                               | 35 |
| 3.11.1 Muestreo de crecimiento.....  | 35 |
| 3.11.2 Tasa de supervivencia (%)......                                       | 36 |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 3.11.3 | Peso final.....   | 36 |
| 3.11.4 | Tasa específica de crecimiento. ....  | 36 |
| 3.11.5 | Tasa de conversión alimenticia. (FCR).....  | 37 |
| 3.12   | Evaluación de la salud de las PL del camarón <i>L. vannamei</i> (Análisis en fresco)..... | 37 |
| 3.12.1 | Observaciones macroscópicas (signos externos).....  | 37 |
| 3.12.2 | Observaciones microscópicas (signos internos). ....                                       | 38 |
|        | Hepatopáncreas.....   | 38 |
| 3.13   | Caracterización y composición del biofloc. ....   | 39 |
| 3.14   | Descripción y cuantificación del plancton. ....   | 40 |
| 3.14.1 | Fitoplancton .....  | 40 |
| 3.14.2 | Zooplancton .....   | 40 |
| 3.15   | Análisis Microbiológico (Judith, 2003).....   | 41 |
| 3.15.1 | Colecta de muestras de agua para análisis microbiológicos. ....                           | 41 |
| 3.15.2 | Técnicas de siembra.....  | 42 |
| 3.15.3 | Conteo de las colonias. ....  | 42 |
| 3.16   | Determinación de carbono orgánico por el método de Ignición. ....                         | 43 |
| 3.16.1 | Recolección de muestra: .....   | 43 |
| 3.16.2 | Procedimiento para obtener datos de materia orgánica y % carbono. ....                    | 43 |
| 3.16.3 | Fórmula empleada para determinar Materia Orgánica. ....                                   | 43 |
| 3.17   | Determinación de Nitrógeno. ....  | 44 |
| 3.17.1 | Recolección de muestras:.....   | 44 |
| 3.17.2 | Procedimiento .....   | 45 |

|  |    |
|--|----|
| 3.18 Pruebas de estrés a baja salinidad. Rojas, A.A., <i>et al</i> (2005). | 45 |
| 3.19 Análisis estadísticos.  | 47 |
| CAPÍTULO IV  | 48 |
| RESULTADOS Y CONCLUSIONES  | 48 |
| 4.1 RESULTADOS   | 48 |
| 4.1.1 Análisis de variables físico- químicas del agua.                     | 48 |
| 4.1.2 Concentración de bacterias totales.                                  | 53 |
| 4.1.3 Concentración de <i>Vibrios</i> totales.                             | 54 |
| 4.1.4 Composición porcentual de <i>vibrios</i> .                           | 55 |
| 4.1.6 Cuantificación de fitoplancton.                                      | 56 |
| 4.1.7 Cuantificación de zooplancton  | 60 |
| 4.1.8 Composición biológica del Solido sedimentado (Floc)                  | 62 |
| 4.1.9 Aspecto de Salud.  | 64 |
| 4.1.9.1 Lípidos en hepatopáncreas de las larvas de camarón.                | 64 |
| 4.1.9.2 Deformidad de los túbulos del hepatopáncreas.                      | 64 |
| 4.1.9.3 Actividad de las larvas  | 65 |
| 4.1.9.4 Depleción intestinal.  | 66 |
| 4.1.9.5 Datos de producción.   | 67 |
| 4.1.10 Relación del Fitoplancton y zooplancton                             | 68 |
| 4.1.10 Relación zooplancton y bacterias totales.                           | 70 |
| 4.1.11 Relación carbono: nitrógeno y bacterias totales                     | 71 |
| 4.1.12 Relación carbono: nitrógeno y el zooplancton                        | 73 |
| 4.2 DISCUSIÓN  | 76 |

|                           |    |
|---------------------------|----|
| 4.3 CONCLUSIONES: .....   | 82 |
| 4.4 RECOMENDACIONES ..... | 84 |
| 4.5 BIBLIOGRAFÍA: .....   | 85 |
| 4.6 WEB: .....            | 90 |
| ANEXOS .....              | 94 |
| TABLAS .....              | 94 |

## INDICE DE TABLAS

|  |     |
|--|-----|
| Tabla 1 Parámetros de calidad de agua para la estabilización del floc. (Lango, Integral Aquaculture, 2012).....                          | 94  |
| Tabla 2 Sustrato y fertilizantes para elaboración de biofloc. ....   | 95  |
| Tabla 3 Evaluación de la prueba de estrés de salinidad. ....   | 96  |
| Tabla 4 Promedio Oxígeno, temperatura, pH y salinidad en cada raceways a lo largo de las dos corridas de producción. ....                | 96  |
| Tabla 5 Promedios de Amonio, nitrito, nitrato y sólidos sedimentados de cada raceways a lo largo de las dos corridas de producción. .... | 97  |
| Tabla 6 Promedio de Diatomeas, cianofitas y clorofitas en cada raceways durante el periodo de dos corridas. ....                         | 98  |
| Tabla 7 Promedios de Ciliados, Rotíferos, Rizópodos y Actinopodos presentes en el agua con BFT. ....                                     | 100 |
| Tabla 8 Datos de producción de las larvas durante las 2 corridas evaluadas.....  | 101 |

## INDICE DE FIGURAS

|   |     |
|---|-----|
| Figura 1. Foto microscópica de flóculos en lente de 10 X.....   | 102 |
| Figura 2 Conos Imhoff para medir biofloc como la concentración de los sólidos que se depositan después de 10 a 20 minutos.....                                    | 102 |
| Figura 3 Organismos observados en BFT (a) Ciliados (Spirotricha), (b) rotíferos, (c) Ciliados (Peritricha) y (d) Ciliados (Holotricha) en magnificación 10 x..... | 103 |
| Figura 4 Ciclo de vida del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> .....   | 103 |
| Figura 5 Ciclo de producción del camarón <i>L. vannamei</i> . (FAO).....  | 104 |
| Figura 6 : Camaronera EXPORMEKSA Taura- Guayas.....   | 104 |
| Figura 7 Raceways con técnica de biofloc. Figura 8 Sistema de aireación (Blowers).<br>.....   | 105 |
| Figura 9 Proceso de desinfección.....   | 105 |
| Figura 10 Aplicación de sustratos, fertilizantes y bacterias.....   | 106 |
| Figura 11 Recepción y siembra de las larvas.....  | 106 |
| Figura 12 Alimentación.....   | 107 |
| Figura 13 Medición de parámetros físicos.....   | 107 |
| Figura 14 Medición de parámetros químicos y sólidos sedimentos .....  | 107 |
| Figura 15 Observación microscópica de las branquias (10x) .....   | 108 |
| Figura 16 Observación microscópica de túbulos del hepatopáncreas (10 X) .....   | 108 |
| Figura 17 Deformaciones y Cantidad de lípidos de los túbulos del hepatopáncreas.....  | 109 |

|  |     |
|--|-----|
| Figuran 18 Floc y Microorganismos que lo componen. ....      | 109 |
| Figura 19 Identificación y cuantificación del plancton. .... | 110 |
| Figura 20 Técnica de siembra de agar TCBS y TSA. ....        | 110 |
| Figura 21 Prueba de estrés de salinidad. ....                | 111 |

## INDICE DE GRÁFICOS.

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 1 Comportamiento del oxígeno y temperatura en el ciclo productivo de la corrida 1. ....            | 49 |
| Gráfico 2 Comportamiento del oxígeno y temperatura en el ciclo productivo de la corrida 2. ....            | 49 |
| Gráfico 3 Concentración de pH durante los días de producción de postlarvas en raceways con BFT.....        | 50 |
| Gráfico 4 Curva de amonio, nitrito y nitrato de la corrida 1(a) y corrida 2 (b). ....                      | 51 |
| Gráfico 5 Concentración de Biofloc en la corrida 1 y 2. ....   | 52 |
| Gráfico 6 (a y b) Cuantificación de bacterias totales en la primera y segunda corrida. ....                | 53 |
| Gráfico 7 (a y b) Cuantificación de vibrios totales en la segunda corrida. ....                            | 54 |
| Gráfico 8 (a y b) Composición porcentual de vibrios (corrida 1 y corrida 2).....                           | 55 |
| Gráfico 9 Gráfico de relación de Carbono y Nitrógeno corrida 1 (a) y 2 (b). ....                           | 56 |
| Gráfico 10 Total de fitoplancton en la columna de agua de la corrida 1 (a) y 2 (b). .                      | 57 |
| Gráfico 11 Porcentajes de los grupos del Fitoplancton de la corrida 1 y 2.....                             | 58 |
| Gráfico 12 Número de Diatomeas (cel/ml) presentes en la columna de agua de la corrida 1 (a) y 2 (b). ....  | 58 |
| Gráfico 13 Número de Cianofitas (cel/ml) presentes en la columna de agua de la corrida 1 (a) y 2 (b). .... | 59 |

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 14 Número de Clorofitas (cel/ml) presentes en la columna de agua de la<br>corrida 1 (a) y 2 (b). .....             | 60 |
| Gráfico 15 (a y b) Total de zooplancton en la corrida 1 y 2. ....  | 61 |
| Gráfico 16 (a y b) Número de ciliados encontrados en el agua durante 2 corridas. ...                                       | 62 |
| Gráfico 17 (a y b) Composición biológica de Biofloc. ....  | 63 |
| Gráfico 18 (a y b) Lípidos en hepatopáncreas de las larvas (corrida 1).....  | 64 |
| Gráfico 19 (a y b) Deformidad de túbulos en grado 1 (corrida 1 y 2). ....  | 65 |
| Gráfico 20 (a y b) Deformidad de túbulos en grado 2 (Corrida 1 y 2). ....  | 65 |
| Gráfico 21 (a y b) Grado de actividad de las larvas (corrida 1 y 2).....   | 66 |
| Gráfico 22 (a y b) Grado de depleción intestinal en las larvas de las corridas de<br>producción 1 y 2.....                 | 67 |
| Gráfico 23 (a) Muestreo de Crecimiento de las corridas 1 y 2 (b).....  | 68 |
| Gráfico 24 Número de células de fitoplancton en Relación con los organismos del<br>zooplancton durante la corrida 01. .... | 69 |
| Gráfico 25 Número de células de fitoplancton en Relación con los organismos del<br>zooplancton durante la corrida 02. .... | 69 |
| Gráfico 26 Número de bacterias totales en relación con el zooplancton presentes en la<br>corrida 01. ....                  | 70 |
| Gráfico 27 Número de bacterias totales en relación con el zooplancton presentes en la<br>corrida 01. ....                  | 71 |

|   |    |
|---|----|
| Gráfico 28 Número de UFC de bacterias totales y relación carbono nitrógeno de la<br>corrida 01. ....              | 72 |
| Gráfico 29 Número de UFC de bacterias totales y relación carbono nitrógeno de la<br>corrida 01. ....              | 72 |
| Gráfico 30 Número de organismos zooplanctónicos y relación de carbono:nitrógeno<br>en la corrida 01.....          | 73 |
| Gráfico 31 Número de organismos zooplanctónicos y relación de carbono: nitrógeno<br>en la corrida 02.....         | 74 |
| Gráfico 32 Relación carbono: nitrógeno y concentración de biofloc cm <sup>3</sup> / ml. En la<br>corrida 01. .... | 75 |
| Gráfico 33 Relación carbono: nitrógeno y concentración de biofloc cm <sup>3</sup> / ml. en la<br>corrida 02. .... | 75 |

## GLOSARIO

Acuicultura.- Técnica de criar y fomentar la reproducción de especies animales o vegetales en agua dulce o salada.

Amoníaco.- El amoníaco, a temperatura ambiente, es un gas incoloro de olor muy penetrante y nauseabundo. Se produce naturalmente por descomposición de la materia orgánica y también se fabrica industrialmente. Es fácilmente soluble y se rápidamente.

Aireación difusa.- los sistemas de aireación difusa tienen como objetivo el suministro adecuado de oxígeno y mezclado apropiado de constitutivos para una variedad de procesos de tratamiento biológico.

Alcalinidad.- se puede definir como una medida de su capacidad para neutralizar ácidos.

Biofloc.- Los sistemas de bioflocs fueron desarrollados para mejorar el control ambiental sobre la producción y prevenir la introducción de enfermedades, en lugares en donde se práctica formas de acuicultura más intensivas

Bacterias heterótrofas.- Las bacterias heterótrofas sobreviven como parásitos, creciendo dentro de otros organismos y utilizando tanto los nutrientes como la maquinaria celular de la célula huésped. Son las que cierran el ciclo de la materia en los ecosistemas al degradar cualquier sustancia orgánica a sus elementos inorgánicos originales.

Bacterias filamentosas.- son pequeños bellos que permiten el movimiento de la bacteria.

Camarones peneidos, Las especies del género *Penaeus* son los camarones comerciales más importantes en el mundo

Estratificación.- es la disposición de los sedimentos en una cuenca marina, lagunar o incluso fluvial, según el orden temporal, dando lugar a capas o estratos debido a la interrupción por discontinuidades o accidentes en la deposición de los materiales.

Flóculos.- es un grumo de materia orgánica formado por agregación de sólidos en suspensión.

Floc microbiano.- La tecnología de biofloc (BFT) consiste en el co-cultivo de bacterias heterotróficas, microalgas y otros microorganismos asociados en conglomerados, o flóculos, que crecen en los estanques de cultivo.

Heterotrófica.- Proceso de formación de materia orgánica sobre la base de carbono orgánico y nutrientes inorgánicos.

Aclimatación.- proceso por el cual un organismo se adapta fisiológicamente a los cambios en su medio ambiente que en general tienen relación directa con el clima.

Salinidad.- contenido de sales minerales disueltas en un cuerpo de agua es válida la expresión salinidad para referirse al contenido salino en suelos o en agua.

Solubilidad.- es una medida de la capacidad de disolverse una determinada sustancia en un determinado medio.

Metano.- Es una sustancia no polar que se presenta en forma de gas a temperaturas y presiones ordinarias. Es incoloro e inodoro y apenas soluble en agua en su fase líquida.

Metano.- Es una sustancia no polar que se presenta en forma de gasa temperaturas y presiones ordinarias. Es incoloro e inodoro y apenas soluble en su fase líquida.

Microbiota.- También conocida como microflora es el conjunto de microorganismos que se localizan de manera normal en distintos sitios del cuerpo humano.

Microbiana.- Relativo al microbio: las enfermedades infecciosas las provoca una invasión microbiana del organismo, y son contagiosas, ya que pueden transmitirse de un organismo enfermo a otro sano.

Probióticos.- son alimentos con microorganismos vivos adicionados que permanecen activos en el intestino y ejercen importantes efectos fisiológicos. Ingeridos en cantidades suficientes, pueden tener efectos beneficiosos, como contribuir al equilibrio de la microbiota intestinal del huésped y potenciar el sistema inmunitario.

Raceways.- son usados desde hace muchos años en las instalaciones acuícolas, principalmente por la facilidad de construcción, la facilidad para la pesca o clasificación de los peces y por la optimización en el uso del espacio disponible.

Sulfuro de hidrógeno.- denominado ácido sulfhídrico en disolución acuosa es un ácido hidrácido de fórmula  $H_2S$ . Este gas, más pesado que el aire, es inflamable,

incoloro, tóxico, odorífero: su olor es el de materia orgánica en descomposición, como de huevo (alimento podrido).

Zonas anaerobias.- se considera que las bacterias anaeróbicas están presentes en la mayoría de los procesos infecciosos, ya como agente principal, o como secundario al tisular producido.

## SIMBOLOGÍA Y ABREVIATURAS

° C= Temperatura en grados Celsius

cm= centímetro.

cell/ml= células por mililitros.

FCA= Factor de conversión alimenticia

Kg= kilogramo

L= Litro

min.= minuto

m= metro

m<sup>2</sup>= metro cuadrado

mm= milímetro

mg/L= miligramo por litro

t= tonelada

h= hora

Pf= peso final

Pi= peso inicial

Nf= número de animales al final

Ni=número de animales al inicio

Bf= biomasa final

Bi= biomasa inicial

S= supervivencia

TSA = Agar tríptico de soya (Tryptic Soy Agar)

TCBS = Tiosulfato Citrato Bilis Sucrosa (Thiosulfato Citrato Bilis Sucrosa)

Ups= unidades prácticas de salinidad

UFC= unidades formadoras de colonias

## RESUMEN

Se evaluó la dinámica del biofloc a través de mediciones de parámetros físicos-químicos y biológicos, en un cultivo de postlarvas *L. vannamei* durante dos corridas de producción en raceways sembradas a una densidad de 26 pL/L (corrida 1) y 20 pL/L (corrida 2). Como fuente de carbono se utilizó melaza adicionada para tener una relación C:N de 20:1. Se cuantificaron las bacterias y *vibrios* totales de la columna de agua; además se determinó la composición biológica del floc. Se realizaron cálculos finales de producción. El cultivo se desarrolló con el oxígeno promedio de  $5,4 \pm 0,67$  mg/L (corrida 1) y  $5,97 \pm 0,78$  mg/L (corrida 2) y el TAN fue de  $0,28 \pm 0,06$  mg/L y  $0,41 \pm 0,07$  mg/L. Las concentraciones finales del floc fueron  $20,5 \pm 3,0$  ml/L (corrida 1) y  $34,5 \pm 12$  ml/L (corrida 2). Los promedios de bacterias totales fueron de  $5,48 \times 10^5 \pm 2,9 \times 10^5$  (corrida 1) y  $6,3 \times 10^6 \pm 1,6 \times 10^6$  (corrida 2); mientras que los promedios de *vibrios* totales fueron de  $3,7 \times 10^3 \pm 4,3 \times 10^3$  UFC/ml y  $7,6 \times 10^2 \pm 6,3 \times 10^2$  UFC /ml. Dominaron en fito y zooplancton las cianofitas y ciliados respectivamente. Los parámetros físicos y químicos están directamente relacionados con la composición biológica del biofloc. El incremento de carbono y nitrógeno aumentó la concentración de bacterias disminuyendo la presencia de *vibrios* totales. Se comprobó que el uso del biofloc permite tener larvas con tolerancia a la prueba de estrés de 95,9 %, además de sobrevivir con un porcentaje promedio de 99% al final de las corridas. Se estableció que existe una relación inversa entre el fitoplancton y zooplancton. Siendo la principal composición del biofloc substrato, cianofitas, diatomeas, ciliados, rizópodos, rotíferos, actinopodos y bacterias totales, en orden de importancia.

**Palabras claves:** Biofloc, composición biológica, dinámica, raceways, TAN.

## ABSTRACT

Biofloc dynamics through measurements of physical, chemical and biological parameters were evaluated in culture *L. vannamei* postlarvae production runs for 2. Cultivation of the larvae was performed in 4 of 45 t raceways and seeded at the density of 26 pL / L (run 1) and 20 pL / L (run 2). Carbon sources added molasses was used to have a C: N ratio of 20:1 bacteria and total vibrios of the water column were quantified, plus biological floc composition was determined. The culture was grown with an average of  $5.4 \pm 0.67$  mg / L (run 1 ) and  $5.97 \pm 0.78$  mg / L ( run 2 ) and TAN was  $0.28 \pm 0.06$  mg / L and  $0.41 \pm 0.07$  mg / L. The final concentrations of floc were  $20.5 \pm 3.0$  ml / L (run 1) and  $34.5 \pm 12$  ml / L (run 2). Averages of total bacteria were  $5.48 \pm 2.9 \times 10^5$  UFC / ml (run 1) and  $6.3 \pm 1.6 \times 10^6$  UFC/ ml ( run 2 ), while the average total *vibrios* were  $3.7 \pm 4.3 \times 10^3$  UFC/ ml and  $7.6 \pm 6, 3 \times 10^2$  UFC / ml. The physical parameters are directly related to the biological composition of biofloc. The increase of carbon and nitrogen concentration increased by decreasing the presence of bacteria and vibrios sp . It was found that the use of biofloc allows larvae tolerance to stress test 95.9 %, plus an average survival of 99 %. It was established that there is an inverse relationship between phytoplankton and zooplankton. Being the main composition of the substrate biofloc, cyanophytes, diatoms, ciliates, rhizopods, rotifers, actinopodos and total bacteria, in order of importance.

Keywords: Biofloc, biological composition, dynamics, raceway, TAN.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La presente investigación destaca la dinámica del biofloc, que en términos generales son microorganismos, micro y macro invertebrados, organismos filamentosos, polímeros extracelulares y alimento no consumido (Kuhn D., 2011). En los últimos años se han venido realizando investigaciones acerca de la tecnología de biofloc (BFT), con la finalidad de saber si al aplicarla en un cultivo proporcionará los requerimientos nutritivos de los organismo acuáticos (Avnimelech Y. , 2007), produciendo biomasa microbiana a través de la transformación de nutrientes que ha sido eliminados en un medio de cultivo y que luego esta biomasa es consumida por los organismos (P. De Schryver, 2008) & (Leffler John W., 2009).

El interés de este estudio fue evaluar el comportamiento del biofloc que está siendo utilizado en granjas acuícolas como fuente de alimento adicional, ya que se requiere de mayor investigación de esta técnica para mejorar su manejo en la acuicultura y evitar problemas ambientales que darían lugar a enfermedades causados por *vibrios* (Crockett, 2013).

Se emplearon mediciones físicos- químicos, que permitieron determinar su incidencia en la composición biológica del biofloc y en la producción de larvas en sistema de raceways. Además se pudo ver la intervención de las bacterias heterotróficas en el proceso de nitrificación. El incremento de carbono y nitrógeno aumentó la concentración de bacterias disminuyendo la presencia de *vibrios* totales, finalmente se determinó la composición del biofloc substrato, cianofitas, diatomeas, ciliados, rizópodos, rotíferos, actinopodos y bacterias totales, en orden de importancia.

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

La tecnología de bioflocs (BFT) permite a los acuicultores optimizar sus estándares productivos manteniendo los parámetros ambientales estables, cultivando sin renovación de agua o prácticamente cero recambio; además mejora la conversión alimenticia con el aprovechamiento de la biomasa bacteriana permitiendo aumentar la densidad de siembra en estanques aireados (Avnimelech, 2012). No obstante con el aumento de la biomasa por unidad de área, la calidad del agua puede convertirse en un factor limitante debido a la acumulación de metabolitos tóxicos, dentro los cuales los más importantes son: amoníaco y nitrito (Boyd, 1998). Pero los mecanismos naturales de control, basados principalmente en la captación de amonio por algas, no son capaces de controlar el nitrógeno en sistemas intensivos (Avnimelech Y., 2012)

La tecnología BFT, ha venido ofreciendo una solución a los problemas ambientales: Primero aumenta el reciclaje de nutrientes de las descargas de los productos de desechos de los cuerpos de agua en fincas camaroneras y por consecuencia reduce la eutrofización de los afluentes. Y segundo tratar de evitar la alta dependencia de la producción de alimentos balanceados con altos niveles de inclusión de proteína, siendo la harina y aceite de pescado la principal materia prima (P. De Schryver, 2008). Mientras que (Avnimelech Y. , 2007) informa sobre la posibilidad de reducir las tasas de alimentación aplicando esta tecnología.

Sin embargo, aún se requiere de mayor investigación para optimizar los procesos y su aplicación en los sistemas acuícola. Ya que de acuerdo a un estudio realizado por (Crockett, 2013) y publicado por la revista “*The global aquaculture advocate*” mencionó “Demasiado biofloc da lugar a problemas de manejo, tales como la reducción de oxígeno disuelto y zonas anaeróbicas que conducen a la formación de sulfuro de hidrógeno y un problema potencial de *Vibrios*”. Además en la actualidad no se sabe qué constituyentes del biofloc contribuyen a un crecimiento acelerado. (Kuhn D., 2011)

Es escasa la información sobre el cultivo de *L. vannamei* en sistemas de raceways con el uso de biofloc, su dinámica y de cómo su composición interactúa de manera sinérgica, lo que con lleva a realizar investigaciones y a buscar alternativas que aporten para mejorar la producción con sistemas cerrados, ya que de otra manera la producción convencional continuaría expandiéndose hasta que aquellos sistemas no alcancen una viabilidad económica, sabiendo que el mundo acuícola espera que la tecnología de biofloc tenga una incidencia de manera positiva en los parámetros productivos del cultivo de post larva.

Es así que la realización de este estudio de la “DINÁMICA DEL BIOFLOC EN CULTIVO INTENSIVO DE POST- LARVA DEL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* EN UN SISTEMA DE RACEWAYS EN LA

CAMARONERA EXPORMEKSA, TAURA - 2013”, pretendió demostrar, si la composición del biofloc incide directamente en los parámetros productivos de las post- larvas y calidad del agua en el cultivo intensivo del sistema de raceways, mediante los análisis de calidad de agua, composición biológica del biofloc, tolerancia de las post larvas a stress de cambios de salinidad y curva temporal de los compuestos nitrogenados, que permitió determinar su incidencia en los parámetros productivos.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la dinámica temporal del biofloc, a partir de análisis físicos-químicos y biológicos, en un cultivo intensivo de post- larva del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en sistema de raceways que permitió determinar su incidencia en los parámetros productivos.

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Relacionar los parámetros de calidad de agua del sistema de raceways con la composición biológica del biofloc determinada en el cultivo de la post- larva del camarón blanco *L. vannamei*.
- Establecer la curva temporal del nitrógeno del sistema de raceways con el uso de la tecnología de biofloc.
- Demostrar si el uso del biofloc permite obtener post-larva con mejor tolerancia a stress de salinidad.
- Elaborar una guía metodológica que permita aportar con información sobre las características físicas químicas y biológicas del biofloc en un sistema de raceways.

## **1.4 HIPÓTESIS**

### 1.4.1 Ha:

La composición del biofloc incide directamente en los parámetros productivos de post- larvas y calidad del agua en el cultivo intensivo del sistema de raceways.

### 1.4.2 Ho:

La composición del biofloc no incide directamente en los parámetros productivos de post- larvas y calidad del agua en el cultivo intensivo del sistema de raceways.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEORICO**

#### **2.1 Tecnología de biofloc**

“En los últimos años la preocupación sobre el impacto medioambiental de las granjas de camarones marinos, asociados con la incidencia de enfermedades, ha llevado al desarrollo de sistemas de producción de agua con poco o ningún cambio” (Hopkins, 1995).

“El uso de precrías intensivas en tanques artificiales (raceways) se está volviendo una práctica muy común en el cultivo de camarón en Sudamérica. En países como Perú y Ecuador ya se realizan incluso bajo techo (en invernaderos) para mantener temperaturas altas y evitar brotes tempranos de virus WSSV (Mancha Blanca)” menciona un boletín de nicovita (Sebastian, 2010).

La tecnología Biofloc es un concepto nuevo en la acuicultura, donde se realiza la manipulación de la comunidad microbiana en condiciones controladas en el sistema

de cultivo con los animales criados (P. De Schryver, 2008). Este sistema facilita producción de los animales acuáticos en altas densidades de siembra de manera sostenible y bioseguridad (Vinatea L., 2010).

(Martínez Cordova, 2009) Menciona que es posible la maternización y precría de camarones peneidos a muy altas densidades (hasta 6000/m<sup>2</sup>), utilizando flóculos bacterianos como fuente primordial de alimentación, con un significativo ahorro de alimento artificial y mejora sustancial de la calidad del agua de descarga.

(Kuhn D. G. B., 2009) y (Kunh D., 2010) informan sobre el uso de los biofloc como ingrediente de la alimentación para *Litopenaeus vannamei*, determinando que estos sistemas pueden reemplazar la proteína de la harina de pescado y de soya. Además Kunh *et al.*, (2009) determinó que el floc microbiano incrementa significativamente el crecimiento de juveniles de camarones.

Según (Neal R. S., 2010) la mayoría de las investigaciones sobre sistemas de biofloc se ha realizado en invernaderos en regiones tropicales o subtropicales con una abundancia de luz natural.

Aunque los investigadores no han cuantificado totalmente lo que está en los bioflocs, saben que son “Un material suspendido en la columna de agua, constituidos por un

consorcio de microorganismos, micro y macro invertebrados, organismos filamentosos, polímeros exocelulares, heces y alimento no consumido” (Kuhn D. y. L., 2012)

Navarrete Armando (2013), en un foro acuícola publicó un breve historial de BFT donde menciona que la misma se ha venido aplicando desde los años 70' s en Ifremer – Tahití con *L. vannamei* y *stylirostris*, década en la que Ralston Purina desarrolló el sistema de cultivo con bacterias nitrificantes en ambiente de total oscuridad; mientras que para la década de los 80's el programa “Ecotrón” inicia investigaciones en BFT, fisiología nutricional del camarón; además Sopomer Farm (Polinesia Francesa) obtuvieron 2 cosechas utilizando tanques de concreto de 1000 m2 con recambio de agua muy bajo.

Posteriormente, para los 90 's en Israel y Wadell Mariculture Center (USA) realizan programas para cultivo de tilapia y camarón *L. vannamei* con BFT, lo que incentiva a que en Belice y Maryland (USA) utilicen estanques y raceways donde aplicaron BFT.

En el 2000 el profesor Yoram Avnimelech en Israel, propone el sistema básico de BFT, tal como se entiende en la actualidad y de la misma manera otros investigadores en diferentes partes del mundo como en Indonesia, México, Brasil y Perú han venido utilizando BFT para maternidades, precría y completando los ciclos de cultivo.

## 2.2 Composición del biofloc.

Los bioflocs son agregados (flóculos) de algas, bacterias, protozoarios y de materia orgánica particulada como: heces y alimento no consumido, cada flóculo se mantiene unido a una matriz de mucosidad secretada por las bacterias junto a microorganismos filamentosos, además incluye a organismos como el zooplancton y nematodos. Se menciona también que los Flóculos en un sistema de biofloc con aguas verdes son bastante grandes, alrededor de 50 a 200 micras (Anexo. Fig. 1). (Hargreaves J. , 2013).

“La producción de bioflocs depende de la calidad de sustrato añadido y su relación C: N” (Avnimelech Y. , 2007). Es así como se han empleado fuentes hidratos de carbono como glucosa, harina de yuca, polvo de celulosa, melaza, harina de tapioca, almidón y harina de trigo; los mismos que sirvieron para mejorar la producción bacteriana en sistemas de acuicultura extensiva e intensiva (Avnimelech and Mokady, 1988; Avnimelech et al., 1994; Avnimelech, 1999, 2007; Buford et al., 2004). “Las fuentes de carbono desempeñan un papel fundamental en la formación biofloc, composición y sus valores nutritivos (Hollender et al, 2002; Oehmen *et al.*, 2004)”.

### **2.3 Valor nutritivo de bioflocs**

Según Hargreaves (2013) los rangos del contenido de proteína de un biofloc en peso en seco tiene un rango de 25 a 50 % pero la mayoría de las estimaciones fluctúa en 30 y 45 % de proteína. El contenido de grasa oscila de 0,5 a 15 % y la mayoría de las estimaciones es de 1 y 5 %. Existen informes contradictorios sobre la idoneidad de bioflocs para proporcionar aminoácidos como metionina y lisina. Pero si se asegura que los bioflocs son buenas fuentes de vitaminas y minerales, especialmente de fósforo y pueden tener efectos de tipo probióticos.

### **2.4 Desarrollo comercial de la tecnología biofloc.**

La BFT durante los últimos años ha sido empleada para el cultivo de camarón blanco *L. vannamei* debido a la alta eficiencia, productividad, sostenibilidad y con menor factor de conversión alimenticia. Esta tecnología propuesta por el profesor Yoram Avnimelech (2000, 2005) en Israel e inicialmente aplicada en el cultivo comercial de camarón en Belice por Robins McIntosh y para el funcionamiento de estanques camaroneros comerciales de biofloc se deriva de las experiencias obtenidas en Belice Acuicultura. Además ha sido aplicado con éxito en la cría comercial de camarones por McNeil (2000), Nyan Taw (2005, 2006, 2009), Nyan Taw & Saenphon Ch. (2005); Saenphon Ch. *et. al.* (2005) según lo menciona Nyan, 2011.

## 2.5 Sistema de biofloc

La revista “*The global aquaculture advocate*” (2012) publicó información sobre la tecnología de biofloc extraída de *The shrimp book* del Dr. Yoram Avnimelech, que el tamaño de la población microbiana depende del suministro de materia orgánica, y la estabilidad de la comunidad aeróbica depende de un amplio suministro de oxígeno.

Yoram explicó que lo que permite la proliferación de microbios es la adición de materia orgánica, cuya fuente principal es el alimento formulado. Las bacterias forman flóculos de hasta unos pocos milímetros de tamaño que son una mezcla de bacterias, residuos orgánicos y microorganismos como protozoos y zooplancton. Un control apropiado de la microbiota permite el control efectivo de la calidad de agua, principalmente a través de la conversión de las especies de nitrógeno inorgánico potencialmente tóxicas a proteína microbiana. A su vez, los camarones pueden utilizar la proteína microbiana para alimentarse (Avnimelech Y., 2012)

Un sistema de biofloc optimizado y sostenible necesita como requisitos básicos estanques recubiertos de polietileno de alta densidad, o revestidos de concreto, altas densidades de siembra de 130-150 postlarvas/m<sup>2</sup> y tasas de aireación de 28-32 hp/ha, además requiere de granos de tipo cereales y melaza para mantener proporciones de carbono: nitrógeno por encima de 15. Se recomienda utilizar agua filtrada a través de

mallas de 250  $\mu$  para evitar que las larvas de crustáceos entren en los reservorios y estanques de cultivo. Al mismo tiempo, el agua habrá sido envejecida al menos 74 horas dentro de los reservorios o estanques de cultivo para eliminar las partículas virales. Sólo postlarvas libres de patógenos específicos deben ser sembradas. Una vez que los estanques están sembrados, un factor importante de control es el volumen de biofloc. Usando conos de Imhoff para la evaluación, el volumen de biofloc necesita mantenerse por debajo de 15 ml / L. El agua verde o marrón es aceptable, pero el agua negra es un indicador de condiciones anormales. (Nyan Taw P. D., 2012)

#### 2.5.1 Tipos básicos de sistemas bioflocs para la acuicultura.

La Southern Regional Aquaculture Center acaba de publicar la hoja informativa “Biofloc Production Systems for Aquaculture”; documento elaborado por John A. Hargreaves (2013), que tiene como finalidad informar sobre las ventajas y aplicaciones de los sistemas bioflocs en la acuicultura, además menciona que los sistemas de bioflocs fueron desarrollados para mejorar el control ambiental sobre la producción y prevenir la introducción de enfermedades, en lugares en donde se practican formas de acuicultura más intensivas.

Los dos tipos básicos son aquellos que se exponen a la luz natural y aquellos que no lo son. Los primeros incluyen, lagunas al aire libre o tanques para el cultivo de camarón

o tilapia y los segundos son canalizaciones revestidas para el cultivo de camarón en invernaderos. Una mezcla compleja de los procesos de control de calidad del agua de algas y bacterias en tales sistemas de biofloc "Greenwater". La mayoría de sistemas de biofloc de uso comercial son greenwater. Sin embargo, algunos sistemas biofloc (canalizaciones y tanques) se han instalado en edificios cerrados, sin exposición a la luz natural. Estos sistemas funcionan como sistemas biofloc "blanco-agua", donde sólo los procesos bacterianos controlan la calidad del agua.

#### 2.5.2 La mezcla y aireación.

La mezcla intensiva es un requisito esencial de los sistemas biofloc. Los sólidos deben ser suspendidos en la columna de agua en todo momento o el sistema no funcionará. Cuando la mezcla deja de funcionar, los bioflocs se y pueden formar montones, que consumen rápidamente el oxígeno disuelto. Estas zonas anaerobias pueden conducir a la liberación de sulfuro de hidrógeno, metano y amoníaco que son altamente tóxicos para los camarones y el pescado. La creación de las condiciones turbulentas en pequeños tanques o canales, es mucho más fácil que en estanques al aire libre más grandes. Sin embargo la turbulencia excesiva puede presentar un reto a los animales cultivados por lo que es difícil para los peces o camarones localizar el alimento. La mezcla es absolutamente esencial para proporcionar aireación u

oxigenación suficiente para satisfacer esta alta demanda de oxígeno y mantener las concentraciones en niveles seguros. (Hargreaves J. , 2013)

Según Nyan Taw, el oxígeno variable muy importante en estos sistemas de biofloc debe monitorearse con frecuencia para mantener niveles mayores a 4 mg/ L; mientras que John A. Hargreaves menciona que la respiración del agua en los sistemas cubiertos de biofloc de aguas cafés es normalmente alrededor de 6 mg O<sub>2</sub> / L por hora.

### 2.5.3 Dinámica de amoníaco

Un objetivo importante del manejo de la calidad del agua en cualquier sistema de producción de animales acuáticos es mantener la concentración de amoníaco debajo de los niveles tóxicos. En los sistemas de biofloc, hay tres procesos principales que el control de la absorción de amoníaco-algas, la asimilación bacteriana, y la nitrificación. Las transformaciones y la dinámica de amoníaco en los sistemas biofloc son complejas, involucrando interacción entre las algas y las bacterias que compiten por el amoníaco. La importancia relativa de cada proceso depende de muchos factores, entre ellos la tasa de alimentación diaria, sólidos en suspensión (biofloc), concentración de amoníaco, la intensidad de la luz, y la entrada de carbono-nitrógeno (C: N) (Hargreaves J. , 2013).

#### 2.5.4 Asimilación bacteriana

Muchos de los primeros nombres para los sistemas de biofloc incluyen la palabra "heterotrófica," que describe a un grupo de bacterias que se obtiene a partir de fuentes de carbono orgánico. Para estimular la producción de bacterias heterótrofas, la relación C: N de los insumos se eleva mediante la adición de una fuente suplementaria de hidratos de carbono o reducir el nivel de proteína de alimentación. Las bacterias heterótrofas crean una demanda de nitrógeno (como amoníaco), porque el carbono orgánico y nitrógeno inorgánico se toman generalmente en una relación fija que refleja la composición y el requisito de las células bacterianas. Por lo tanto, el amoníaco se puede controlar mediante la adición de carbono orgánico para estimular el crecimiento de bacterias heterotróficas (Hargreaves J. , 2013).

La comunidad de bacterias heterotróficas puede minimizar la acumulación de amonio por la asimilación de la biomasa bacteriana. La comunidad bacteriana puede ser promovida por la manipulación de la tasa de carbono: nitrógeno en la columna de agua, además una comunidad bacteriana quimioautótrofas (bacterias nitrificantes) pueden prevenir la acumulación de amoníaco y nitritos a través de la oxidación a nitrato (Otoshi, 2011)

### 2.5.5 Nitrificación

La oxidación de amoníaco a nitrato en dos etapas se llama nitrificación. El proceso bacteriano transforma una forma tóxica de nitrógeno (amoníaco) a una que sólo es tóxica en altas concentraciones (nitrato). Al transcurrir el tiempo el nitrato se acumula en los sistemas biofloc de bajo intercambio. En contraste con el ciclo rápido del amoníaco disuelto las algas y las bacterias, la nitrificación es responsable de una gran fracción (25 a 50 por ciento) del nitrógeno que proviene de la alimentación añadida en los sistemas intensivos con Biofloc. Si se eliminan los sólidos, una fracción significativa de nitrógeno añadido se puede sacar del sistema. (Hargreaves J., 2013).

En el proceso de nitrificación el exceso de amoníaco se convertirá en nitrito y nitrato gracias a las bacterias nitrificantes presentes en los bioflocs, también disminuye el pH, lo cual hace necesario ajustar el pH regularmente. La desnitrificación puede utilizar el carbono presente en las heces de los camarones como fuente de energía para eliminar los nitratos y producir alcalinidad. De esta manera, el nivel de nitrato puede ser controlado. (CreveTec, 2012)

### 2.5.6 Equilibrio de entrada C: N

Un factor importante que controla las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato en sistemas de biofloc es la adición de sustratos carbonatados (Control C / N) la misma que mejora la producción microbiana (Avnimelech Y, 2008 )

El alimento con un porcentaje de concentración de 30 a 35 proteína tiene una baja relación C:N, 9 a 10:01, por lo tanto es necesario el aumento de la relación C: N de 12 a 15:01 ya que favorecen a los organismos heterótrofos para el control de amoníaco como mencionó el investigador anterior, éste aumento se da mediante la adición de materiales complementarios con alta relación C: N. O; algunas fuentes de carbono han venido utilizándose en sistemas de biofloc, pellets de cereal integral, melaza, caña de azúcar, bagazo y paja picada, entre otros. La absorción de amoníaco por las bacterias heterotróficas se produce rápidamente después de la suplementación de hidratos de carbono. Las bacterias heterotróficas en sistemas de biofloc pueden actuar sobre la materia orgánica sencilla y rápidamente, en minutos para horas. Los carbohidratos simples tales como azúcar (sacarosa o dextrosa) o almidón tendrán el efecto más rápido. Hay varios inconvenientes en añadir continuamente carbono orgánico para controlar el amoníaco. Esta vía estimula la producción de sólidos bacterianos, que se acumulan. Si no se controla, la concentración de sólidos puede llegar a niveles que causan obstrucción branquial. (Hargreaves J. , 2013).

El centro de investigaciones de Acuicultura de Colombia en una de sus publicaciones menciona que aplicó una alta proporción C/N (16-20:1) (adicionando melaza y urea) (Sierra, 2012) de esta manera previno la acumulación de NH<sub>4</sub> y NO<sub>2</sub>. En Ecuador también se ha utilizado a la melaza en sistemas de biofloc, como fuente de carbono, para mantener una relación C: N de 15 (Cedano M., 2013)

#### 2.5.7 Manejo de sólidos.

Los conos Imhoff de sedimentación son una forma sencilla de medir la concentración de sólidos que se depositan a partir de 1 litro de agua, el tiempo para estandarizar el volumen, normalmente debe ser de 10-20 minutos (Anexo.Fig.2), En estanques de camarón el rango típico de concentración es de 10 a 15 ml / L. Una concentración relativamente baja de sólidos en suspensión también permite la fotosíntesis de las algas para contribuir al suministro de oxígeno (Hargreaves J. , 2013).

#### 2.5.8 Manejo de la alcalinidad.

La alcalinidad es la capacidad del agua para amortiguar los cambios en el pH en respuesta a las adiciones de ácido o base. La actividad de las bacterias nitrificantes es responsable de la mayoría de las pérdidas de alcalinidad en sistemas biofloc intensivos. El ácido producido por la nitrificación desgasta la reserva de alcalinidad en el agua. Una vez que se agota la alcalinidad, el pH puede reducirse drásticamente,

la inhibición de la función bacteriana, incluyendo la de las bacterias nitrificantes importantes. En ese caso, el amoníaco se acumula hasta el punto donde se restringen apetito y la respuesta de alimentación. Esto limita la tasa diaria de alimentación, la eficiencia de conversión alimenticia, y, en última instancia, el rendimiento. La alcalinidad debería mantenerse entre 100 y 150 mg / L como CaCO<sub>3</sub> por adiciones periódicas de bicarbonato de sodio. En la nitrificación, dominado por sistemas intensivos biofloc, cada kilogramo de alimento introducido en el sistema debe ser complementado con 0,25 kg de bicarbonato de sodio. (Hargreaves J. , 2013).

#### 2.5.9 Fito y zooplancton en sistema de biofloc.

Los sistemas de biofloc pueden mantener la calidad del agua dependiendo de la actividad del fitoplancton, presencia de bacterias, agregados de vida adheridos a las partículas de materia orgánica y microorganismos como (Anexo. Fig.3) rotíferos y protozoarios (ciliados y flagelados) que se mantiene en suspensión. (Emerenciano M., 2012)

## 2.6 Generalidades del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

### 2.6.1 Taxonomía de la especie en estudio.

Phylum: Arthropoda

Clase: Malacostraca

Orden: Decapoda

Suborden: Dendobranchiata

Superfamilia: Penaeoidea

Familia: Penaeidae

Género: *Litopenaeus*

Especie: *vannamei* (Pérez-Farfante y Kensley, 1997)

### 2.6.2 Ciclo de vida del camarón.

Las hembras grávidas son reconocidas fácilmente por sus ovarios verdes, visibles a través del caparazón (Van Olst, 1972). Luego los huevos maduran y pasan a través de una serie de estadios larvales: nauplio, zoea y mysis, posteriormente alcanzan el estadio de post-larva que asemeja a un camarón adulto. Luego las post-larvas se mueven en dirección a la costa hacia los estuarios de los ríos, donde se desarrollan rápidamente, pues encuentran una mayor disponibilidad de alimento, menor salinidad, mayores temperaturas y protección contra los depredadores. Después de

sucesivas mudas, las post-larvas se transforman en juveniles manteniéndose en los estuarios de los ríos durante un lapso de 3 a 4 meses (Morales, 1990), posteriormente comienzan a migrar al mar donde su crecimiento es más rápido (CPC, 1989).

#### 2.6.2.1 Estadíos larvales.

Luego de la eclosión del huevo (14 a 16 horas después de la fertilización), el siguiente estadio larvario se llama nauplio, existiendo cinco subestadios naupliares, etapa se alimentan de las reservas de vitelo (Morales, 1990). El estadio de zoea aparece luego de la quinta metamorfosis de nauplio, esta muda se caracteriza por la diferenciación del cefalotórax con el abdomen y el nado hacia adelante (Edemar, 1996), este estadio consta de tres subestadios y tiene una duración de 4 a 6 días. A partir de la primera zoea la larva comienza a absorber alimento del agua, que generalmente consiste en microalgas fitoplanctónicas (Arellano, 1990). Luego del tercer estadio zoea, las larvas mudan pasando al estadio de mysis, en el cual se puede observar el cuerpo encorvado en la región abdominal y nado mediante contracciones abdominales (Edemar, 1996) esta etapa consta de tres subestadios con una duración total de 3 días. Las larvas pueden ser alimentadas con Artemia, Rotíferos y nematodos (Arellano, 1990), en los siguientes tres estadios se desarrollaran poco a poco los pleópodos hasta llegar al estadio de post-larva (Anexo. Fig. 4) donde estos son totalmente funcionales, en esta etapa la post-larva se asemeja a un camarón en miniatura, además usan los pereiópodos para agarrarse y arrastrarse (Edemar, 1996).

## **2.7 Variables físicas.**

### 2.7.1 Temperatura.

La temperatura en el género *Litopenaeus*, requieren para su desarrollo temperaturas tropicales, ósea alrededor de 25 °C. Aunque pueden soportar temperaturas menores, a 18 °C dejan de alimentarse y a 12 °C entran en un estado de vida latente, lo cual es aprovechado para el transporte de reproductores. A temperaturas mayores de 30 °C pueden presentarse camarones “acalambrados” ya que el metabolismo puede llegar a acelerarse demasiado (Auró, 2006).

### 2.7.2 Salinidad.

La salinidad es la cantidad total de materia sólida disuelta en un Kg. de Agua de mar, se mide en g/Kg. ‰ (ppm). La salinidad del Agua de mar es de 35 ppm, más o menos 3 ppm sin embargo, la salinidad encontrada en los estanques de cría puede variar mucho, sea subir con la evaporación o bajar con la lluvia. Los rangos de tolerancia de la salinidad para los camarones es muy amplia y pueden sobrevivir de 0 ppm hasta 50 ppm sin embargo, el rango de crecimiento óptimo es de un promedio de 15 a 25 ppm (FAO, 1989).

## **2.8 Variables químicas.**

### 2.8.1 Oxígeno disuelto.

El género *Litopenaeus* requiere concentraciones de oxígeno disuelto mayor a 3 y óptimamente alrededor de 5 mg/L. La cantidad de oxígeno disuelto en el agua determina la densidad de carga del sistema, por esta razón en sistemas intensivos e hiperintensivos la aireación es indispensable. En sistemas semi-intensivos la concentración adecuada debe ser mayor de 4 mg/L. El exceso de oxígeno puede ser perjudicial y causar la enfermedad conocida como burbujas de gas. (Auró, 2006)

### 2.8.2 pH

El pH es la concentración de iones hidrógeno de una solución. El consumo de CO<sub>2</sub> en el proceso de fotosíntesis conduce a un aumento de pH y la producción de CO<sub>2</sub> con la respiración conduce a una baja del pH. Los valores de 6,5 hasta 9 en el agua, es considerada como buena para el cultivo de camarones. Si el pH es inferior a 5 todo el tiempo, generalmente el agua tendrá ácido sulfúrico por lo tanto habrá que hacer un tratamiento con cal. (FAO, 1989)

### 2.8.3 Alcalinidad

La alcalinidad total es la medida de la capacidad del agua de neutralizar ácidos, además indica la cantidad total de bases titulables presentes en el agua, principalmente bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ), carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) e hidróxidos ( $\text{OH}^-$ ). El bicarbonato es la principal forma de alcalinidad (Ching, 2007). El Carbonato y el hidróxido pueden ser significativos cuando la actividad de las algas es alta y en ciertos tipos de agua o residuos de agua. Si la alcalinidad es menor de 40 ppm, el camarón tendrá problemas para mudar y si el pH es menor a 7.5, es posible que se pueda observar algo de mortalidad en el cultivo. El rango óptimo de alcalinidad está entre 80 y 100 ppm. Por otro lado, si alcalinidad es alta (200 -300 ppm) y el pH es mayor de 8.5, el camarón tampoco podrá mudar. Para recuperar los niveles de alcalinidad hay que aplicar cal. También la alimentación incrementa la alcalinidad por la producción de iones de Carbono. La alcalinidad en un estanque de cultivo de *P. vannamei* no debe bajar de 80 mg/L  $\text{CaCO}_3$  para lograr un óptimo crecimiento y buena supervivencia (Limsuwan, 2005).

### 2.8.4 Calidad de agua en sistemas con técnica de biofloc

Un sistema con técnica de biofloc, requiere de rangos estables y óptimos para el desarrollo y función de las bacterias que intervienen en el proceso de nitrificación heterotrófica (bacterias nitrificantes). (ANEXO Tabla 1)

### 2.8.5 Pruebas de estrés.

La necesidad de garantizar la calidad de larvas ha hecho disponer de un método fiable que permita evaluarlas (Aquacop, 1991), es ahí donde surgen como alternativas viables las pruebas de estrés y las estrategias que usualmente se ocupan como estresores estos son los cambios de salinidad y pH (Durán, 1991) El estrés se define como “una alteración fisiológica (Bioquímica, Citológica, comportamiento) medible que puede ser inducida por un cambio medioambiental, el cual hace vulnerable a una población, comunidad u organismo sometido a este cambio (Lignot, 2000) Estos bioensayos son aplicables una vez que la larva posee su estructura branquial definitiva (PL 6), incrementándose su resistencia a los cambios de salinidad a medida que aumenta su estado fisiológico, pero a tallas iguales (Aquacop *et al.*, 1991). La osmorregulación es un importante mecanismo de adaptación al medio ambiente de las especies acuáticas especialmente en crustáceos (Pequeux, 1995; citado por Lignot *et al.*, 1999). El *L. vannamei* es considerada una especie altamente eurihalina (Boyd, 1990). Las especies eurihalinas, que son las que soportan grandes cambios de salinidad del medio en el que están, regulan osmóticamente sus fluidos corporales como adaptación a estos cambios (Lignot *et al.*, 1999).

#### **2.8.6. Vibriosis, enfermedad bacteriana causada por *Vibrios sp.***

La vibriosis es una de las enfermedades más problemáticas en la acuicultura de mariscos y peces; es responsable de la mortalidad del camarón de cultivo en todo el mundo (Dr. A. Venkateswara Rao, 2012). Las especies *Vibrio* están ampliamente distribuidas en las instalaciones de cultivo de todo el mundo. Las infecciones relacionadas con *Vibrio* frecuentemente se dan en los hatcheries, pero las epizootias también se dan en los estanques de crianza de las especies de camarones. Vibriosis es causada por una bacteria gran-negativa de la familia *Vibrionaceae*.

Se han reportado a menudo como patógenas oportunistas para camarón, tanto en la fase de larvicultura como en engorda. En cada una de estas etapas algunos vibrios se han reportado como más frecuentes, de esta manera se ha reconocido la presencia de *Vibrios parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. damsela* principalmente en estanques de engorda de camarón así como de *V. harveyi* y *V. splendidus* se han detectado mayormente en el cultivo larvario. (Cesasin, 2003).

## **CAPÍTULO III**

### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1 Área de estudio.**

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la camaronera EXPORMEKSA S.A. Ubicada en la parroquia Taura de la Provincia del Guayas – Ecuador. (Fig. 6)

#### **3.2 Diseño y manejo del cultivo.**

Se realizó dos ciclos de producción de post- larva en 4 raceways de cemento con técnica de Biofloc con capacidad de 45 Toneladas cubicas de agua cada uno (Fig.7).El primer ciclo duró 13 días de evaluación (7 de maduración del floc y 5 de producción) mientras que el segundo ciclo fue de 15 días (5 de maduración del floc y 9 de producción). El oxígeno de este sistema de cultivo fue suministrado por 2 blowers (eléctrico) de 2 hp cada uno (Fig. 8)

### **3.3 Desinfección.**

Previo a cada siembra de las post-larvas se desinfectó las líneas de aire, agua y los tanques. Respecto a las líneas de aire y agua se limpiaron con Alcohol introduciendo la solución en cada línea de tubería y mantenidas por 4 horas. Los tanques se lavaron con cepillo y agua, además se les adiciono una solución del 20% de Peróxido de Hidrogeno al 50% de concentración y dejándolos reposar por 30 min, finalmente se enjuagaron con una solución de vitamina C a razón de 50gramos por cada tanque (Fig. 9).

### **3.4 Llenado y fertilización.**

Se inició el llenado de los tanques con agua del canal reservorio con una salinidad de 3 ppt, se filtró el agua con bolsos de una micra de diámetro Al 50 % de llenado se encendieron los blowers y adicionó al agua cal P 24 a una concentración de 125 ppm bien diluido Al completar el 100% del volumen del tanque se aplicó 400 ppm de Peróxido de Hidrogeno (50%v/v) a cada tanque dejando actuar por 24 horas con aireación.

Después de haber cumplido las 24 h. de desinfección se adicionaron los fertilizantes, como fuente de carbono: Melaza (40 % de carbono) y como fuente de nitrógeno:

Urea. Luego de una hora se aplicó los microorganismos iniciando con Pond pro y antes de la siembra de la PL se incluyó Aquapro, una hora después se colocó el substrato fertilizando con polvillo de arroz. (Fig. 10). El biofloc se dejó madurar en los raceways 5 días respectivamente, antes de la siembra de las PL. (Anexo: Tabla 2)

### **3.5 Puntos de control durante la preparación del Bioflocs.**

- a.- Limpieza de los bordes del tanque varias veces al día.
- b.- Control de la formación de macroalgas en los tanques.

### **3.6 Recepción de larva en la Camaronera y aclimatación.**

Previo al transporte de la larva desde el Laboratorio Menisa, ubicado en Mar Bravo, provincia de Santa- Elena hacia a la camaronera, se realizó un análisis Fito- sanitario y se seleccionó las post –larvas de mejor calidad, de líneas domesticadas que estén genéticamente acondicionadas para sobrevivir bajo las condiciones del cultivo (3ppt de salinidad). La aclimatación sirvió para modificar condiciones físico – químicos con el menor stress y mortalidad posible (Fig. 11).

### **3.7 Siembra**

Se midió temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y amonio, en el momento que ingresaron las post-larvas a la camaronera. Se tomó muestras de larvas en un beakers de 250 ml. Para determinar si existió mortalidad en el transporte de larva. También se realizó observaciones microscópicas para determinar el estado en que llegaron las post-larvas. Finalmente se sembró a una densidad de 26 pL/L, en los raceways de la primera corrida de producción, mientras que la segunda corrida fue de 20 pL /L.

### **3.8 Alimentación.**

Las larvas del camarón blanco *L. vannamei*, fueron alimentados con alimento para larva de la marca Zeigler # 0 al 2 con el 50 % de proteína (Fig. 12). La alimentación se incrementaba o disminuía en función a las siguientes consideraciones:

- Días de cultivo (Aumenta en función a los días de cultivo)
- Densidad de flocs (Aumenta la densidad – disminuye la Ración Diaria)
- Relación C/N: (Si aumenta el amonio total , se suspende o disminuye)
- Estado lipídico de hepatopáncreas.
- Residuos de alimento en el tanque.
- Estadio sanitario de las larvas.

### 3.9 Cálculo de la cantidad diaria de melaza.

Se estableció la cantidad de nitrógeno proveniente del alimento que queda en el estanque teniendo en cuenta que la proteína contiene 16 % de N y que el 70% del nitrógeno consumido es excretado en forma de amonio y se aplicó la siguiente fórmula: (Sierra De la Rosa J., 2007)

$$\text{Kg N x día.} = \text{RD x \% PA x 16 \% x 70 \%}$$

R. D: Ración Diaria

P. A: Proteína del Alimento

Kg N/día. Kilos de Nitrógeno/día

Se calculó la cantidad de melaza con base en relación al carbono / nitrógeno de 20:1, multiplicando la cantidad de nitrógeno por 20 de carbono, que luego se incluyó el valor del % de carbono que tiene la melaza (40%) para que al final la fórmula que se utilizó sea:

$$- \text{ Kg melaza.} = \text{Kg C x 100/40 \%}$$

### **3.10 Análisis de medición.**

En los dos ciclos de producción realizada, se registraron los parámetros físicos, químicos y biológicos en cada uno de los tanques circulares con sistemas de raceways

#### 3.10.1 Parámetros Físicos.

Se midió diariamente en el horario de la mañana (11 am) Temperatura °C, Oxígeno disuelto mg/L y Salinidad (ppt), en un YSI (Professional Plus) y el pH se utilizó un pH-metro (Ecosense pH 10 A) (Fig. 13).

#### 3.10.2 Parámetros químicos.

Los parámetros químicos que se analizaron 3 veces por semana (Fig.14)

##### 3.10.2.1 Determinación de compuesto Nitrogenados.

El Amonio total ( $\text{NH}_4\text{-N}$  mg /L), nitrito ( $\text{NO}_2\text{-N}$ mg /L) y nitrato ( $\text{NO}_3\text{-N}$  mg /L).fueron determinados por kits (Palintest) para cada parámetro. Luego fueron medidas la concentración con una selección automática de longitud de onda en un Photometro Ecosense 9300 marca YSI

### 3.10.2.2 Determinación de alcalinidad total.

Se determinó la alcalinidad total (mg/L de CaCO<sub>3</sub>) por el método de titulación estándar con el uso de la fenolftaleína.

### 3.10.2.3 Determinación de los sólidos sedimentos. (Ceniagua, 2009).

Se determinaron los sólidos sedimentados aplicando el método de sedimentación por conos Imhoff. Se tomó una muestra de más de 3 litros de la columna de agua, y se los concentro en un litro de la capacidad del cono, se dejó reposar por una hora y se hizo la lectura en términos de cm<sup>3</sup>/L.

## **3.11 Indicadores de desempeño del camarón**

Se realizaron muestreos para evaluar los posibles efectos del biofloc sobre el rendimiento del camarón.

### 3.11.1 Muestreo de crecimiento

Diariamente en cada raceway se tomaron 3 alícuotas de 1 gramo de larva, donde se procedió a contar el número de larvas contenida en ese peso para expresarlo como pl/gramo y peso promedio en gramos de cada larva.

### 3.11.2 Tasa de supervivencia (%).

La supervivencia se calculó al final del ciclo de producción de cada raceways y se determinó mediante la fórmula utilizada por Cruz et al., (1993).

$$TS (\%) = (N^{\circ} \text{ final de animales cosechados} / N^{\circ} \text{ inicial de animales sembrados}) \times 100$$

### 3.11.3 Peso final

Al final de esta etapa de producción, de cada raceways se tomaron 3 alícuotas de 1 gramo de larva, donde se contaron las PL contenida en ese peso, y de la misma manera que se lo hizo diariamente esta también se los expresó como pL/gramo y peso promedio en gramos de cada larva.

### 3.11.4 Tasa específica de crecimiento.

Esta variable se la aplicó al final de la corrida en raceways, tomando en cuenta el peso final e inicial de las PL, aplicando la siguiente fórmula.

$$TEC = (\log \text{ natural peso final} - \log \text{ natural del peso inicial} / \text{número de días}) \times 100$$

$$(SGR = [(\text{Ln Peso final} - \text{Ln Peso inicial} / \text{tiempo}) \times 100])$$

### 3.11.5 Tasa de conversión alimenticia. (FCR).

Se calculó al final de cada corrida de producción en cada raceways, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{FCR} = (\text{F}) \text{ Alimento consumido} / \text{Biomasa ganada}$$

$$\text{Biomasa ganada} = (\text{Wf (peso final)} - \text{Wo (peso inicial)})$$

### **3.12 Evaluación de la salud de las PL del camarón *L. vannamei* (Análisis en fresco).**

#### 3.12.1 Observaciones macroscópicas (signos externos).

Todos los días se realizó un monitoreo de salud tomando 10 muestras de camarones (al azar) de cada raceway. Donde se determinó:

- Actividad del organismo.
- Branquias (necrosis, presencia o ausencia de suciedad)
- Apariencia del intestino (lleno, medio o vacío)
- Exoesqueleto (presencia o ausencia de necrosis)
- Hepatopáncreas (tamaño, consistencia y coloración)
- Pigmentación (cromatóforos expandidos).

La valoración tuvo un Rango del 0 – 4, siendo los de mayor rango aquellos que presentaban la mejor condición.

### 3.12.2 Observaciones microscópicas (signos internos).

Otro aspecto importante que se tomó en cuenta dentro de la revisión diaria de los organismos, fueron las observaciones hechas al microscopio de los siguientes órganos:

#### Branquias.

Se tomó una pequeña muestra de las branquias de cada organismo (10 PL) y se colocó en el portaobjetos (con una gota de agua destilada), para buscar cambios en la coloración de los filamentos branquiales (melanización y necrosis) presencia de protozoarios como *Zoothamnium sp.*, *Epistylis sp.*, *Acineta sp.*, detritus del fondo de los estanques, restos de microalgas, hongos y deformaciones (Fig. 15)

#### Hepatopáncreas.

Se tomó muestras de hepatopáncreas de 10 larvas vivas (retirando la cobertura) y con una pinza se colocaron en una placa portaobjetos sin agua y fueron cubiertas con un

cubre objeto haciendo una suave presión; de esta manera se lleva la muestra inmediatamente al microscopio donde se examinando los siguientes aspectos:

Morfología de los túbulos (engrosamiento y deformación), valorando de acuerdo al estado con grado 1 si hay engrosamiento de paredes tubulares y grado 2 cuando existe deformaciones (Fig. 16 y 17).

- Abundancia de lípidos (de 1-4).
- Presencia de BVP (Báculo virus penaei)

Se realizó un análisis directo al microscopio de preparaciones de hepatopáncreas y observación de cuerpos de oclusión poliédricos (PIB).

### **3.13 Caracterización y composición del biofloc.**

La cuantificación de microorganismos se realizó utilizando la técnica de microscopia de campo, Se tomó 1 ml de biofloc sedimentado en el cono Imhoff y se homogenizo la muestra luego se colocaron 10 gotas de este Biofloc y se las monto sobre la placa portaobjetos, para observar y determinar la composición, clasificando los grupos taxonómicos principales con una escala de abundancia relativa (1-4). (Leffler John W., 2009)(Fig. 18).

### **3.14 Descripción y cuantificación del plancton.**

#### 3.14.1 Fitoplancton

Se tomó una muestra del agua no filtrada (50 ml) de cada raceways, estos muestreos coincidieron con las tomas de muestras de los parámetros físicos, químicos y biológicos realizados 3 veces por semana. Se preservó con 600  $\mu$ L de Lugol para cuantificar y determinar en la cámara de Sedgewick-Rafter con la ayuda de un microscopio a una magnificación de 160 X (APHA et al., 1998).

El fitoplancton se clasificó taxonómicamente hasta nivel de Orden para cianobacterias, mientras las diatomeas fueron agrupadas en Pennales o Centrales y las algas verdes según tamaño (Cocke, 1967; Jiménez, 1983). Para Dinoflagelados en peridiniales (Streble, 1987). La cuantificación se expresó como número de células por litro (cel/ml (Apha Chairman R., 1985)

#### 3.14.2 Zooplancton

Se tomó una muestra de 8 L. de agua de cada raceways, la misma que se pasó a través de una malla de 300  $\mu$ m para retener en el tamiz organismos menores a este micraje y luego se pasó lo tamizado por una malla de 50  $\mu$ m, concentrando lo que quedó en el tamiz en un volumen de 100 mL los mismos que se preservaron con 4 mL de

formalina al 10%. Para determinación y conteo de zooplancton, se realizó una dilución (1:10), para luego colocar 1 ml en la cámara de Sedgewick-Rafter con la ayuda de un microscopio a una magnificación de 160X (APHA *et al.*, 1998).

Se clasificó el zooplancton hasta el nivel de Orden para los ciliados, mientras que para los otros microorganismos se los clasificó por grupos. (Streble, 1987). La cuantificación se expresó como número de organismos por litro (org/L) (Apha Chairman R., 1985) (Fig. 19).

### **3.15 Análisis Microbiológico (Judith, 2003)**

#### 3.15.1 Colecta de muestras de agua para análisis microbiológicos.

Las muestras fueron tomadas a media columna de agua en cada tanque, utilizando frascos estériles de 250 ml. Después de ser recolectadas las muestras fueron llevadas al frío hasta su posterior tratamiento en el laboratorio de Microbiología.

- Agar TCBS (DIFCO ®) para el crecimiento específico de *Vibrios sp.*
- Agar TSA (DIFCO ®) para crecimiento de bacterias heterotróficas.

### 3.15.2 Técnicas de siembra.

Las siembras se realizaron siguiendo la metodología tradicional empleando diluciones sucesivas en una relación 1:10 para las muestras de agua. Las diluciones fueron con solución salina al 2% con NaCl, estéril.

Posteriormente se realizó la siembra por el método directo (barrido) colocando 100  $\mu$ l de la dilución en su respectiva caja Petri en agar TCBS. Las placas serán incubadas en posición invertida ente 28-30 °C por 24 horas.

### 3.15.3 Conteo de las colonias.

Se realizó el conteo total de Unidades formadoras de colonias presentes en cada placa (UFC  $\text{ml}^{-1}$ ) para muestra de agua.

-Los conteos se realizaron con la ayuda de una lupa. Y se las reportó como *vibrios* totales, aquellas que crecieron en agar TCBS y bacterias totales las que crecieron en agar TSA (Fig. 20).

### **3.16 Determinación de carbono orgánico por el método de Ignición.**

#### 3.16.1 Recolección de muestra:

Se recogió una muestra (100 ml) de cada raceways, colocándola en frascos de muestras estériles, luego se procedió a sellarlos y a mantenerlos en refrigeración hasta su análisis.

#### 3.16.2 Procedimiento para obtener datos de materia orgánica y % carbono.

Primero se centrifugo la muestras en una centrifuga Van Guard V 6500 (Biohazard) durante 5 min., luego se retiró el sobrenadante y se extrajo 1 g. de muestra, la misma que se colocó en un crisol previamente tarado.

Se colocó la muestra a una temperatura de 105 grados por 24 horas., se retiró la muestra dejando enfriar en un desecador y a continuación se colocaron las muestras en una mufla a 500 grados por 6 horas (Fig. 21).

#### 3.16.3 Fórmula empleada para determinar Materia Orgánica.

$$\text{OM (\%)} = 100 - \frac{W_f - W_r}{W_{ts} - W_r}$$

**OM:** Concentración de material orgánico expresada en porcentaje.

**Wr:** Peso del crisol tarado.

**Wts:** Peso tarado del crisol y el suelo calentado a 105 grados.

**Wf:** Peso del crisol y suelo después de calentar en la mufla.

Para reportar la concentración de carbono orgánico en vez de materia orgánica se multiplicó este valor por 0.58. Ya que se estima que la materia orgánica presenta un 58 % de carbono.

### **3.17 Determinación de Nitrógeno.**

Para determinar el porcentaje de nitrógeno se utilizó un analizador de proteína por combustión Leco FP-528, que a la vez proporcionaba los resultados utilizando el Software FP-528.

#### **3.17.1 Recolección de muestras:**

Se tomó una muestra (100 ml) con frascos muestreadores estériles de los tanques que contenían el biofloc, se sellaron los frascos y se llevaron a refrigeración hasta su posterior análisis.

### 3.17.2 Procedimiento

Se centrifugo la muestras en una centrifuga Van Guard V 6500 (Biohazard) durante 5 min., luego se retiró el sobrenadante y se mantuvo las muestras en refrigeración hasta su posterior análisis.

El siguiente paso consistió en preparar el analizador de proteína Leco FP 528, utilizando un blanco para encerar el equipo y software. Luego se utilizó AAFCO 201321, colocando en una capsula específica del equipo el mismo que permitió leer los resultados. Fue necesario utilizar un atrapador de proteínas (Com- Aid for liquids) antes de colocar la muestra en cada capsula ya que no era totalmente sólida.

Luego se extrajo una pequeña cantidad de cada muestrea, en una capsula que contiene Com- aid previamente tasado, para luego pesar la muestra en una balanza analítica y poder introducirla en el Analizador; finalmente se espera 5 min. para que den los resultados (Fig. 22)

### **3.18 Pruebas de estrés a baja salinidad. Rojas, A.A., *et al* (2005).**

Se preparó agua (500 ml) a salinidad de 5 partes por mil (ppt.)

Se cogieron al azar 100 Post-larvas del tanque de cultivo y se depositaron en el recipiente con agua a 5 partes por mil de salinidad. Se esperó por 30 minutos.

Se llevaron las postlarvas a la salinidad en que se encontraban originalmente. Se dejaron transcurrir otros 30 minutos.

Al final de este segundo periodo se contaron las postlarvas vivas y muertas. El resultado se expresó en términos de porcentaje.

Evaluación.

Vivas son consideradas todas aquellas larvas que al tocárselas con la pipeta se muevan aunque sea un poco en los pleópodos. Activas son aquellas larvas que poseen movimiento propio, o que al tocárselas con la pipeta respondan con un brinco (Fig.23).

Sobrevivencias al stress sobre el 90 % y actividad sobre el 85% son consideradas aceptables (Tabla 3).

### **3.19 Análisis estadísticos.**

La evaluación estadística se realizó utilizando el análisis de regresión y el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) lineal (Francis Galton en el siglo XIX) en Microsoft excel para explorar la relación de los parámetros físicos-químicos y la composición biológica del biofloc, con el rendimiento de camarón basada en el crecimiento y tasa de conversión alimenticia.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

#### **4.1 RESULTADOS**

##### **4.1.1 Análisis de variables físico- químicas del agua.**

Los parámetros de temperatura, pH, salinidad y oxígeno de las dos corridas de producción en raceways, correspondientes a los meses de agosto y septiembre, nos indica que estas variables físico- químicas fueron muy similares en los 4 raceways (Tabla 4), teniendo la concentración de oxígeno disuelto (mg/L) más baja en la primera corrida (promedio 5,4 mg/L  $\pm$  0.67) y la más alta en la segunda corrida (promedio 5,97mg/L  $\pm$  0.78). Presentando una depleción de oxígeno a partir del segundo muestreo en ambas corridas; de 6,55 mg/L a 5,375 mg/L en el segundo muestreo (corrida 01) y 8,6 mg/L a 6,075 mg/L en el segundo muestreo (corrida 02) (Gráfico 1 y 2). Con respecto a la temperatura en la primera corrida estuvo entre 28.38 °C  $\pm$  1.06 y 29.09°C  $\pm$  1.1 6 durante el ciclo de producción donde el valor más bajo se reportó en el raceway 1 y el valor más alto en el raceway 4. En la segunda corrida el valor mínimo se observó en el raceway 1 con 28.77 °C  $\pm$  1.06 y el raceway

3 presentó los valores más altos con  $29.09\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.06$ . (Tabla 4). La salinidad no tuvo una diferencia significativa entre raceways, estuvo entre  $4.14 \pm 0.08$  (corrida 1) y  $4.32 \pm 0.10$  (corrida 2) (Tabla 4).

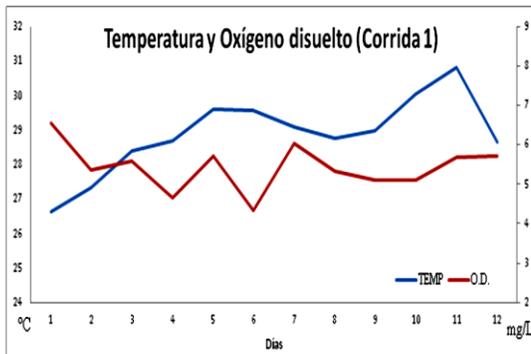


Gráfico 1 Comportamiento del oxígeno y temperatura en el ciclo productivo de la corrida 1.

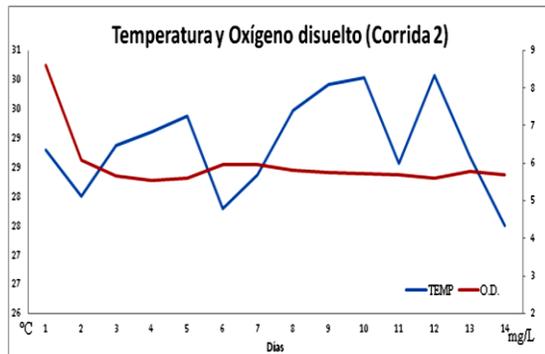


Gráfico 2 Comportamiento del oxígeno y temperatura en el ciclo productivo de la corrida 2.

Aunque la diferencia de pH no fue significativa, se puede apreciar que en la corrida 1, el pH se mantuvo durante todo el ciclo entre 8.07 a 8.12, con un pequeño descenso en el día 3 mientras que en la corrida dos, el pH inicia levemente inferior con 7.8 con un descenso al sexto día de la corrida, pero a partir del séptimo este vuelve a ascender paulatinamente hasta el final de la corrida (Gráfico 3).

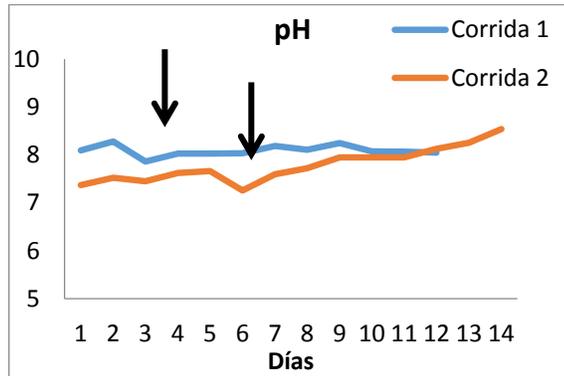


Gráfico 3 Concentración de pH durante los días de producción de postlarvas en raceways con BFT.

La concentración de amonio (mg/L) promedio alcanzada en la primera y segunda corrida en los 4 raceways de producción, no presentaron una diferencia significativa, pero si se presentó un aumento de la concentración desde el muestreo 1 al muestreo 3. Se observó una tendencia similar en la segunda corrida, pero la concentración de amonio incremento casi en un 95% respecto a la primera. (Tabla 5)

La concentración promedio nitrito (mg/L) tanto en la primera y segunda corrida son más similares (Tabla 5) Con un valor promedio más alto en el RW 2,  $0.30\text{mg/L} \pm 0.27$  a lo largo de la corrida 2, mientras que en la corrida 1 el valor promedio más bajo a lo largo del ciclo fue en el RW2,  $0.20\text{mg/L} \pm 0.27$  Sin embargo también existió un incremento del 19% de la concentración de nitrito de la segunda corrida respecto a la primera.

Los promedios obtenidos de nitrato (mg/L) y sólidos sedimentables (Tabla 5) presentaron diferencia entre los raceways como también entre las 2 corridas evaluadas. El promedio más bajo de nitrato fue en la corrida 2 con  $0.46\text{mg/L} \pm 0.22$  y el más alto con  $1.19\text{mg/L} \pm 1.07$  en la misma corrida. Los valores de sólidos sedimentables fueron más altos en la segunda corrida en comparación con los de la 1era corrida, con valores promedios desde  $11.67 \pm 7.50$  (1era corrida) y  $19.14 \pm 15.44$  (2da corrida).

En el gráfico 4 (a y b) que corresponde a la corrida uno y dos respectivamente se observa que tanto las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato siguen un mismo patrón, incrementándose a partir del primer día llegando a su máxima concentración en el 6to muestreo, y en el caso de la corrida 2 que si se realizó un 7mo muestreo, éste disminuye drásticamente. Sin embargo el nitrato es el que más se incrementa entre los tres parámetros.

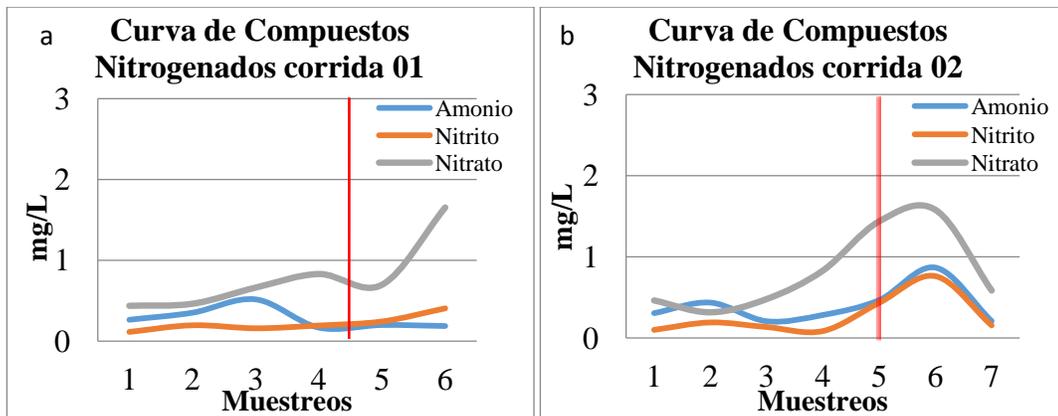


Gráfico 4 Curva de amonio, nitrito y nitrato de la corrida 1(a) y corrida 2 (b).

Al cuantificar la concentración de biofloc ( $\text{cm}^3/\text{L}$ ) tanto en la corrida 1 y 2 se observó un incremento casi lineal desde el primer al cuarto muestreo, disminuyendo la concentración en el quinto muestreo. Sin embargo la mayor concentración de floc, se la obtuvo en la segunda corrida con un incremento del 68%.

Obteniendo como máxima concentración de Biofloc de  $20,5$  y  $34,5 \text{ cm}^3/\text{L}$  para la primera y segunda corrida respectivamente (Gráfico 5).

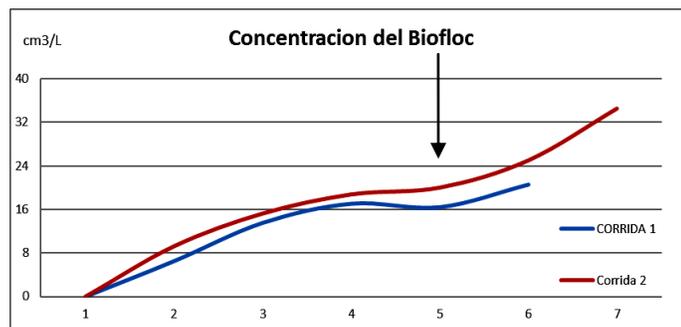


Gráfico 5 Concentración de Biofloc en la corrida 1 y 2.

La alcalinidad fluctuó entre  $240 - 295 \text{ mg/L CO}_3\text{Ca}$  en la primera corrida y  $218 - 295 \text{ mg/L CO}_3\text{Ca}$  en la segunda, la curva muestra que existió una alza de alcalinidad en la 2 corridas pero con la diferencia que en la primera descendió a partir del cuarto muestreo manteniéndose casi estable hasta el sexto muestreo, mientras que en la segunda corrida los valores fueron más altos en el quinto muestreo habiéndose mantenido inestable hasta el final de la corrida.

#### 4.1.2 Concentración de bacterias totales.

Las concentraciones de bacterias totales en la primera corrida permiten detectar diferencias significativas entre los 3 primeros muestreos (menores a  $5,00 \times 10^5$  UFC/ml) y los 3 últimos, donde se ve un incremento en el cuarto y quinto muestreo de  $6,00 \times 10^5$  UFC/ml y  $1,30 \times 10^6$  UFC/ml respectivamente; mientras en el último muestreo la concentración de colonias desciende hasta  $5,80 \times 10^5$  UFC/ml (Gráfico 6 a).

La corrida 2 presentó una inestabilidad desde el tercer muestreo con  $1,10 \times 10^7$  UFC/ml hasta el quinto con un aumento a  $1,60 \times 10^7$  UFC/ml, pero que a partir del sexto muestreo empieza a descender a  $2,00 \times 10^5$  UFC/ml; sin embargo es importante aclarar que existe un elevado error estándar en especial en los muestreos 5 y 6 (Gráfico 6 b).

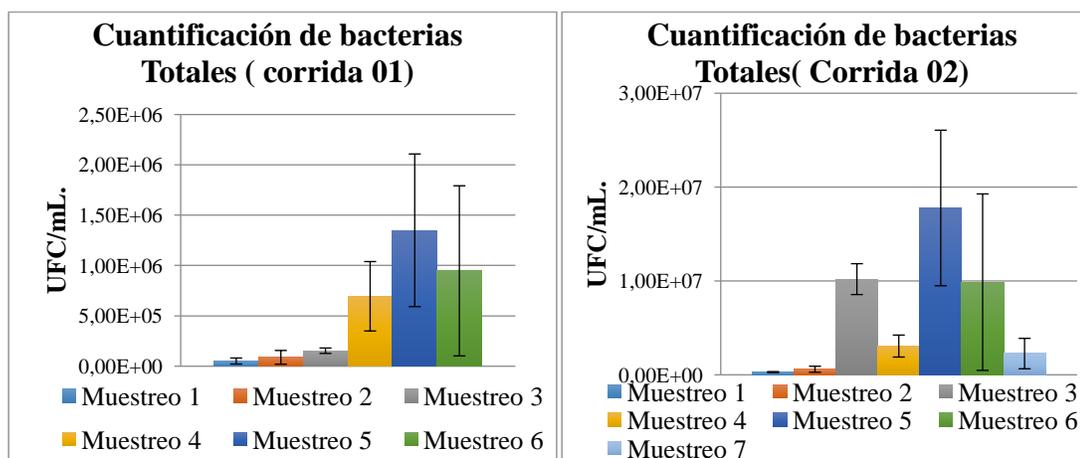


Gráfico 6 (a y b) Cuantificación de bacterias totales en la primera y segunda corrida.

### 4.1.3 Concentración de *Vibrios* totales

En la cuantificación de *vibrios* presentes se encontró un crecimiento muy variado en las dos corridas, al inicio de la corrida 1 se ve una pequeña población, incrementándose hasta el segundo muestreo a  $2.00 \times 10^3$  UFC / ml y descendiendo a  $1.00 \times 10^3$  UFC / ml en el tercer muestreo (Gráfico 7 a). Durante los muestreos 4 y 5 con  $7.7 \times 10^3$  UFC / ml, fueron los valores más altos, sin embargo el comportamiento en la segunda corrida tiene un comportamiento diferente a la primera ya que en el 2do muestreo este alcanza los valores más altos ( $2,9 \times 10^3$  UFC / ml) y tiene un descenso en el 3ero hasta el quinto muestreo donde asciende ( $1,2 \times 10^3$ ) pero que paulatinamente baja hasta el último muestreo a un promedio de  $3,0 \times 10^2$  (Gráfico 7 b).

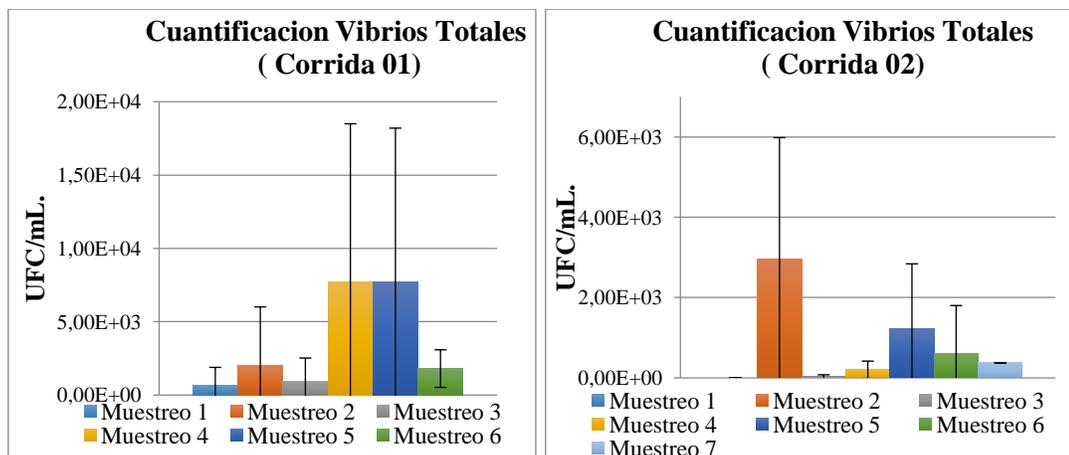


Gráfico 7 (a y b) Cuantificación de vibrios totales en la segunda corrida.

#### 4.1.4 Composición porcentual de *vibrios*.

Durante ambas corridas evaluadas también se obtuvieron valores porcentuales de las colonias amarillas y verdes que componen los *vibrios*, dando a conocer que en la primera corrida no hubo diferencia alguna entre los diferentes muestreos con excepción del muestreo 2 y 5 que presentaron 24 % y 12 % de colonias verdes respectivamente (Gráfico 8 a) diferenciándose de la corrida 2 (Gráfico 8 b) donde existió mayor porcentaje de colonias verdes (93, 70, 6 y 100%) en los muestreos 2, 5, 6 y 7.

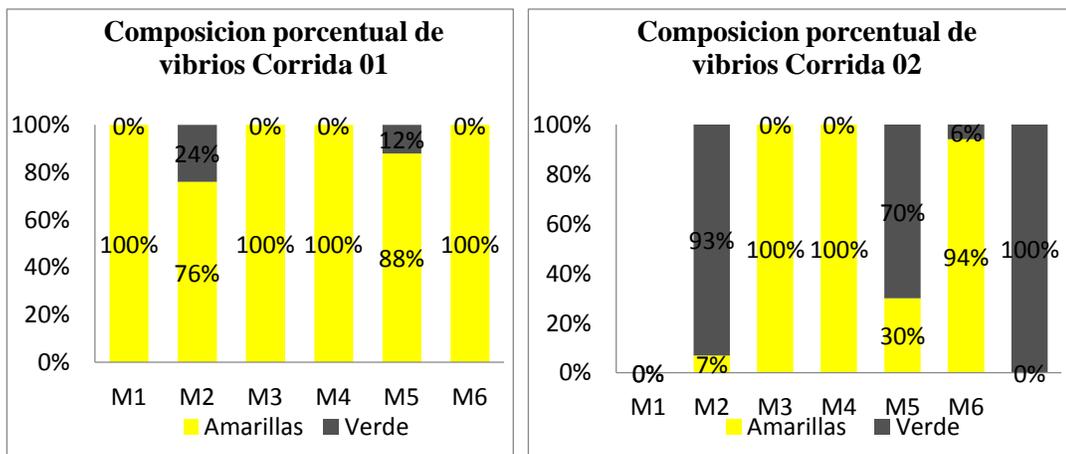


Gráfico 8 (a y b) Composición porcentual de vibrios (corrida 1 y corrida 2).

#### 4.1.5 Relación Carbono: Nitrógeno, del biofloc.

Durante el tiempo de evaluación en las 2 corridas demuestran que la relación carbono: nitrógeno, fue baja en la primera corrida en comparación con la corrida 2.

Los valores promedios más altos fueron de 48,9 hasta 135,6 los mismos que aumentaron paulatinamente (Gráfico 9 a y b).

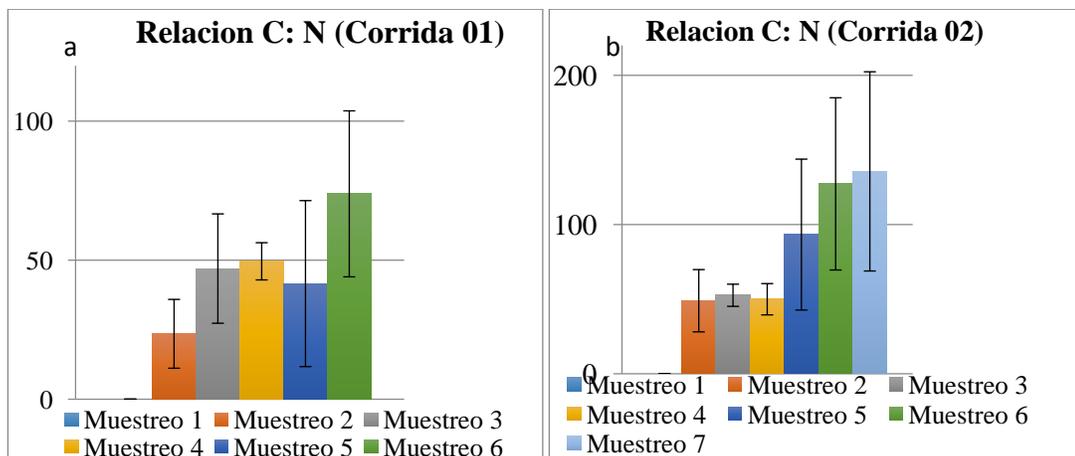


Gráfico 9 Gráfico de relación de Carbono y Nitrógeno corrida 1 (a) y 2 (b).

#### 4.1.6 Cuantificación de fitoplancton.

El número de células de fitoplancton (Gráfico 10 a y b) presente en la corrida 1 fue diferente en comparación a la corrida 2, ya que sus valores promedios fueron más altos comenzando desde el primer muestreo con  $2,75 \times 10^5$  cel/ ml descendiendo

paulatinamente hasta el sexto muestreo con  $6,4 \times 10^4$  cel/ ml en cambio en la corrida 2 los valores promedios fueron menores desde  $1,2 \times 10^4$  cel/ ml en el primer muestreo para luego terminar en el último muestreo con  $2,2 \times 10^3$  cel/ ml.

El promedio de diatomeas, cianofitas y clorofitas fue diferente para ambas corridas donde el mayor número de células estuvo presente en la primera corrida dominando el orden de las pennales en las diatomeas y Chroococcales para cianofitas; además las dentro de las clorofitas el grupo que mayor número de células presentó fueron las menores a  $10 \mu$  (Tabla 6) .

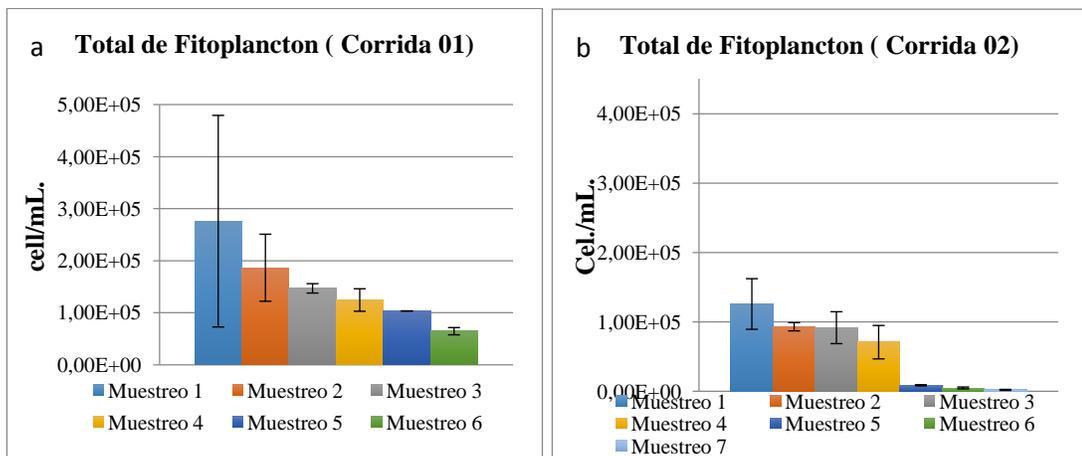


Gráfico 10 Total de fitoplancton en la columna de agua de la corrida 1 (a) y 2 (b).

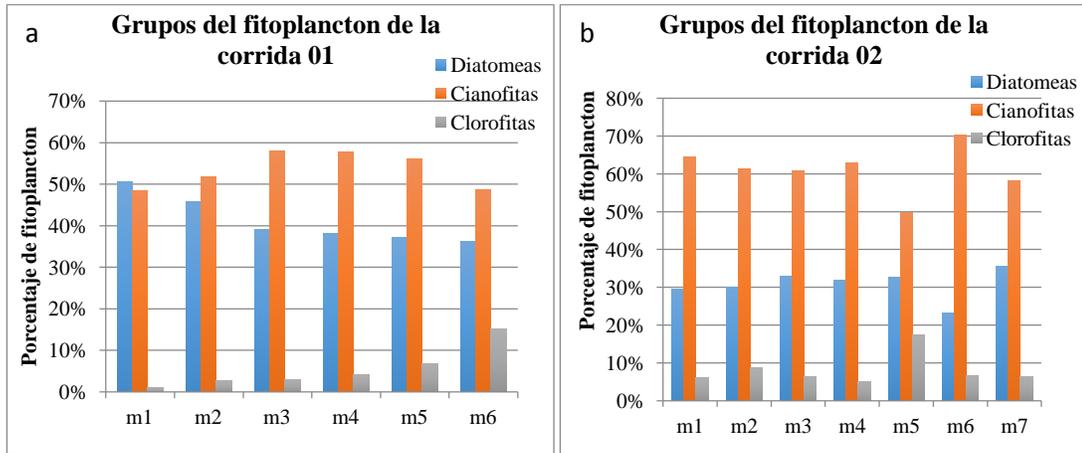


Gráfico 11 Porcentajes de los grupos del Fitoplancton de la corrida 1 y 2.

El fitoplancton formado por los grupos de Diatomeas, cianofitas y clorofitas estuvo dominado en ambas corridas por las cianofitas, con valores más altos en la corrida 2 (70 % del total) (Gráfico 11 a y b).

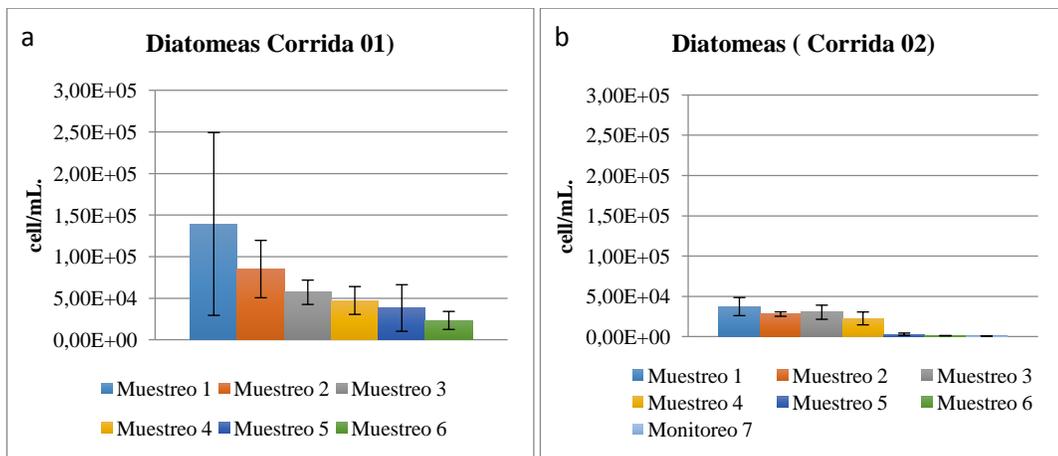


Gráfico 12 Número de Diatomeas (cel/ml) presentes en la columna de agua de la corrida 1 (a) y 2 (b).

El gráfico 12 (a y b) muestra que las diatomeas estuvieron presentes con mayor número en la primera corrida desde el primer monitoreo con  $1,3 \times 10^5$  cel/ ml descendiendo hasta  $2,3 \times 10^4$  cel/ ml en el último monitoreo.

De manera similar estuvieron presentes las cianofitas con valores más altos en la primera corrida desde  $1,3 \times 10^5$  cel/ ml hasta  $3,1 \times 10^4$  cel/ ml, pero los valores más bajos se encontraron en la corrida 1 (Gráfico 13 ay b).

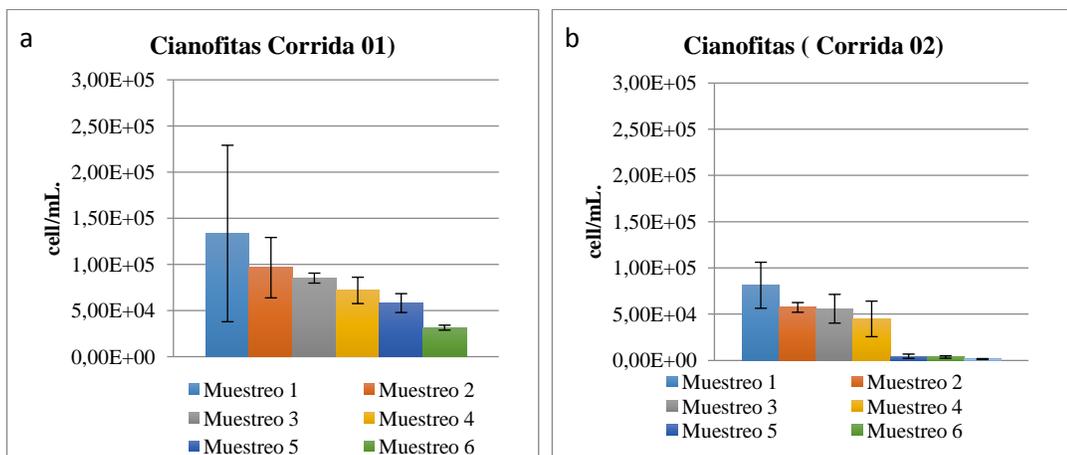


Gráfico 13 Número de Cianofitas (cel/ml) presentes en la columna de agua de la corrida 1 (a) y 2 (b).

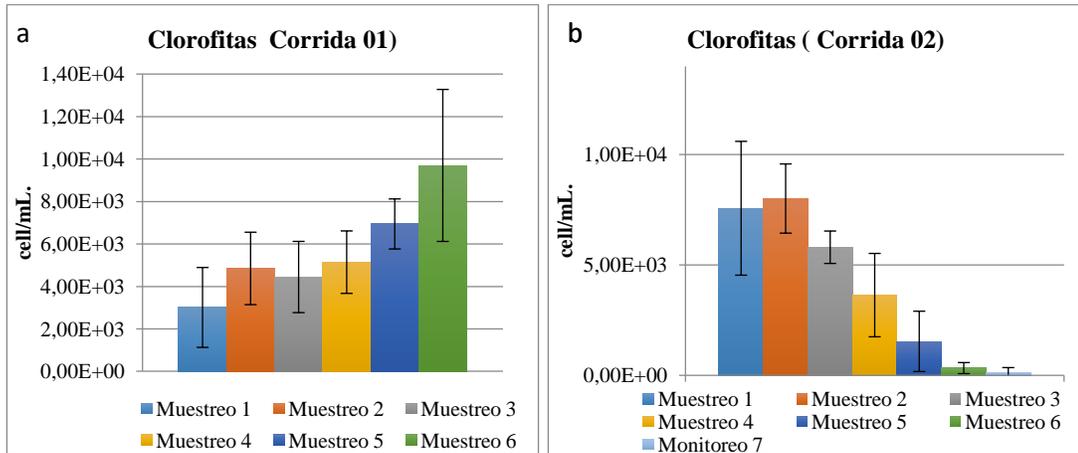


Gráfico 14 Número de Clorofitas (cel/ml) presentes en la columna de agua de la corrida 1 (a) y 2 (b).

Las Clorofitas presentaron una gran diferencia entre las 2 corridas teniendo los datos más altos de manera ascendente desde el primer muestreo con  $3,0 \times 10^3$  cel/ ml hasta  $9,7 \times 10^3$  cel/ ml en la corrida 1 y los datos más bajos en la corrida 2 descendiendo paulatinamente desde  $7,5 \times 10^3$  cel/ ml hasta  $1,4 \times 10^2$  cel/ ml (Gráfico 14).

#### 4.1.7 Cuantificación de zooplancton

De acuerdo a la (Gráfico 15 a), la concentración de zooplancton está presente en ambas corridas evaluadas desde el primer muestreo y de manera ascendente, con la diferencia de que en la primera corrida hubo un menor número de organismos desde  $1,8 \times 10^5$  org./ L (primer muestreo) hasta  $4,3 \times 10^6$  org./L (sexto muestreo); mientras que en la segunda corrida se tuvo valores desde  $4,2 \times 10^4$  hasta  $1,7 \times 10^7$

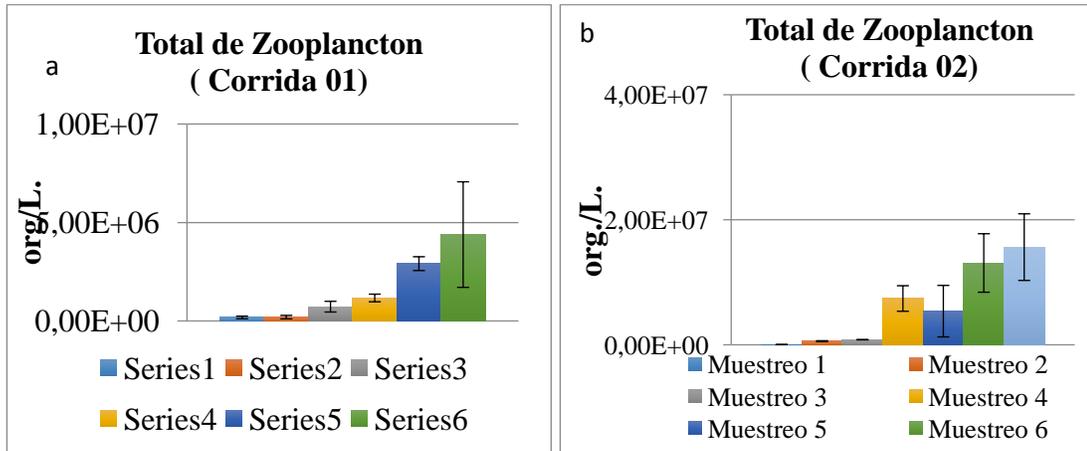


Gráfico 15 (a y b) Total de zooplancton en la corrida 1 y 2.

Los organismos zooplanctónicos identificados y cuantificados durante los 2 períodos de evaluación estuvieron constituidos mayormente por el orden Peritricha dentro del grupo de ciliados con promedios más altos de la corrida 2 desde el 4to ( $5307200 \pm 851427$  org./L) hasta el séptimo ( $14880000 \pm 4950070$  org./L), siguiéndole el orden Spirotricha con promedios similares entre las 2 corridas evaluadas; mientras que el grupo menos representativo fue Actinipoda (Tabla 7).

El gráfico 16 (a y b) nos indica que los ciliados siendo el grupo que dominó en la columna de agua en ambas corridas de producción y fue aumentando paulatinamente.

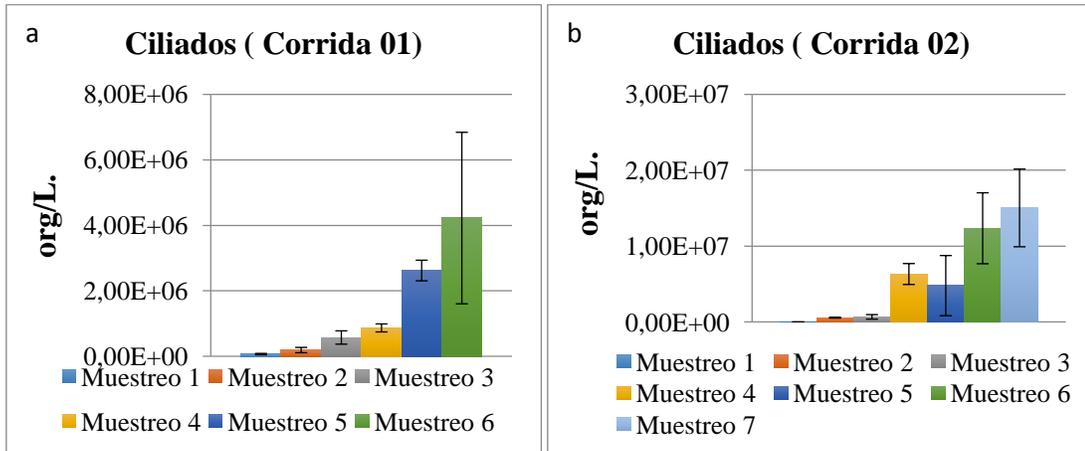


Gráfico 16 (a y b) Número de ciliados encontrados en el agua durante 2 corridas.

#### 4.1.8 Composición biológica del Sólido sedimentado (Floc)

Los principales componentes relevantes en los sólidos sedimentados (FLOC) fueron el sustrato (alimento, heces, polvillos, etc.) luego las diatomeas, cianofitas y ciliados. (Gráfico 17). Esta predominancia fue observada en ambas corridas, aunque siempre en el primer muestreo la composición fitoplanctónica fue la segunda en importancia y paulatinamente fue sustituida por la composición zooplanctónica (ciliados y rizópodos)

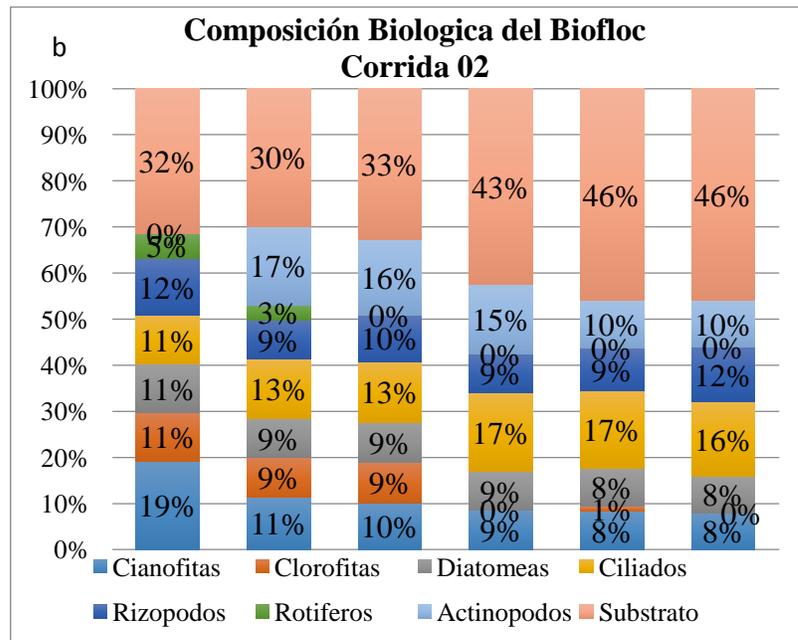
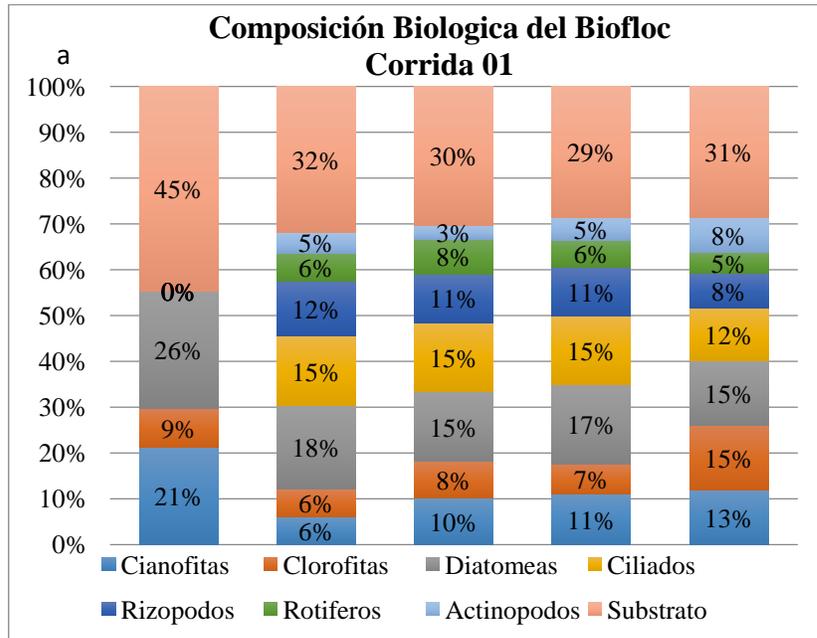


Gráfico 17 (a y b) Composición biológica de Biofloc.

#### 4.1.9 Aspecto de Salud.

##### 4.1.9.1 Lípidos en hepatopáncreas de las larvas de camarón.

El grado de composición lipídica en hepatopáncreas se mantuvo en un promedio de 3,40 a 3,80 sin existir diferencias significativas entre los muestreos, (Gráfico 18). Sin embargo existió una diferencia en la corrida 2, donde se evidencio un menor grado de composición lipídica de 2,8 a 3,6.

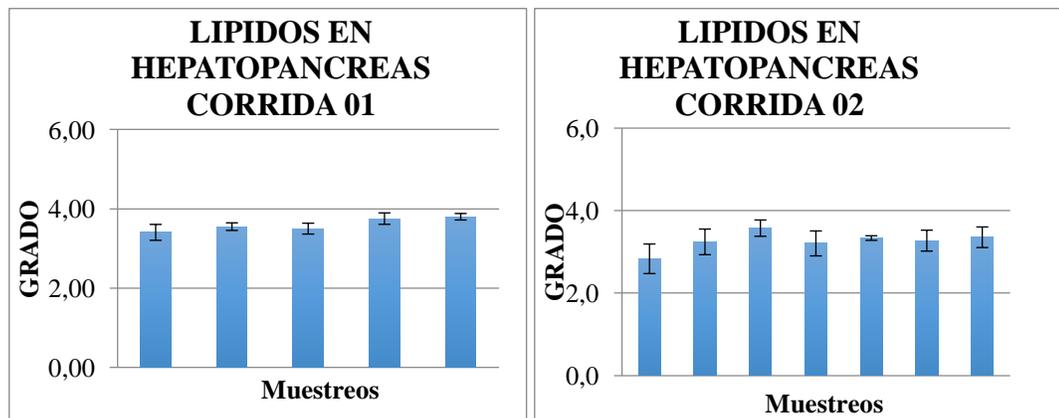


Gráfico 18 (a y b) Lípidos en hepatopáncreas de las larvas (corrida 1).

##### 4.1.9.2 Deformidad de los túbulos del hepatopáncreas.

El gráfico 19 (a y b) indican que los valores más altos de deformidad de los túbulos se presentaron en la corrida 2 con el porcentaje promedio más alto (75%) en el primer y cuarto muestreo. Además con un porcentaje bajo de deformidad de túbulos grado 2 en ambas corridas sin diferencia significativa. (Fig. 20 a y b).

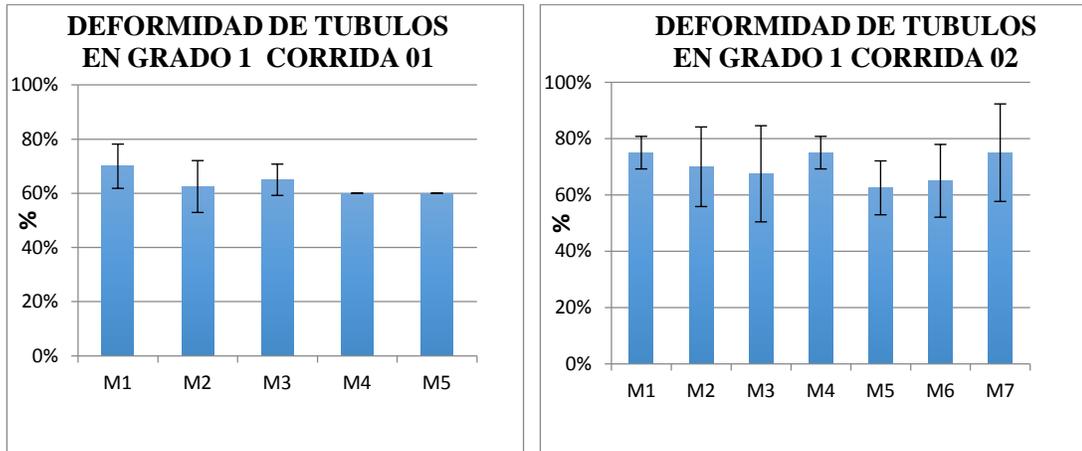


Gráfico 19 (a y b) Deformidad de túbulos en grado 1 (corrida 1 y 2).

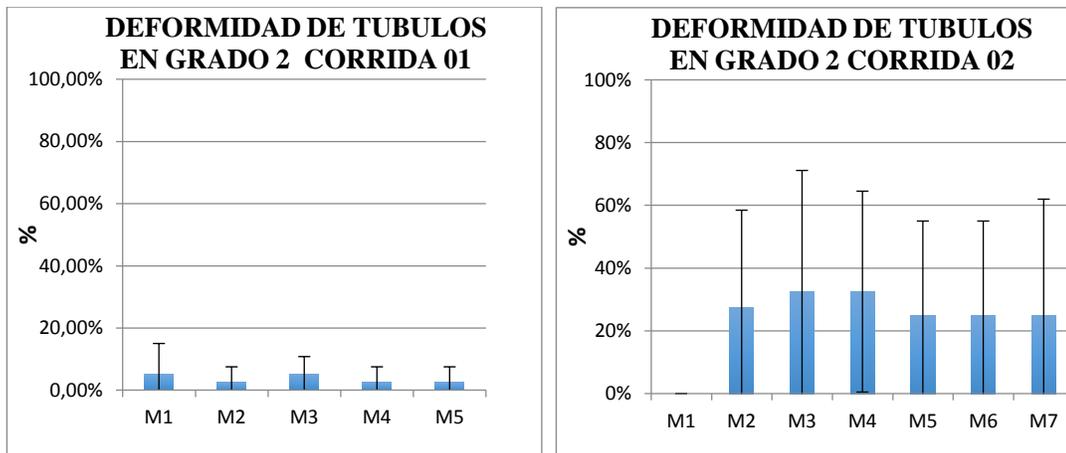


Gráfico 20 (a y b) Deformidad de túbulos en grado 2 (Corrida 1 y 2).

#### 4.1.9.3 Actividad de las larvas

La actividad de las larvas se mantuvo sin diferencia alguna en los muestreos de la primera corrida desde el valor más bajo (2,0) en el primer muestreo y el más alto

(3,5) en el último, con valores similares en la corrida 2 pero mayor inestabilidad (Gráfico 21 a y b).

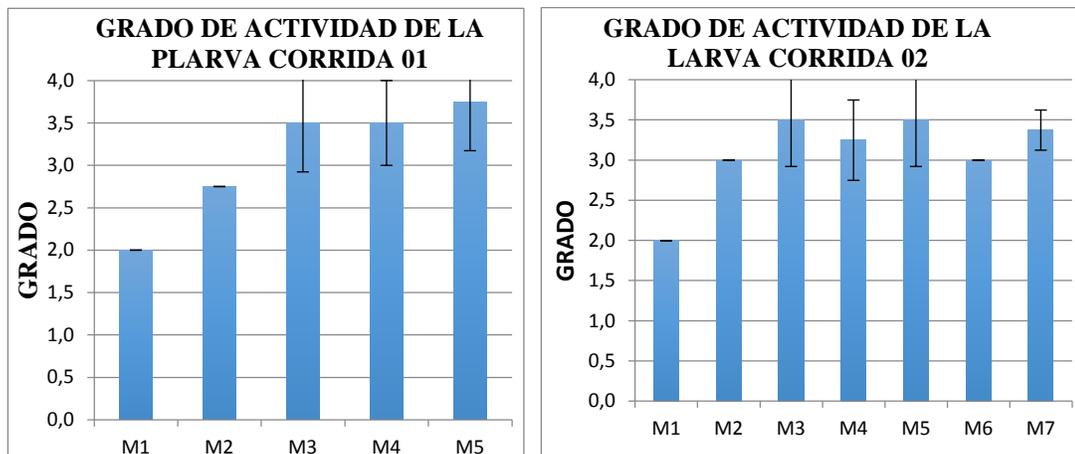


Gráfico 21 (a y b) Grado de actividad de las larvas (corrida 1 y 2)

#### 4.1.9.4 Depleción intestinal.

Los valores promedio de grado de depleción intestinal, durante los diferentes muestreos en la primera (Fig. 22 a) y segunda corrida (Fig. 22 b) fueron similares llegando hasta valor promedio de 3,5 indicando que el intestino de las larvas se mantuvieron siempre en buen estado, con una pequeña diferencia del día 1 de la corrida 1 que presentó un grado promedio de 0.5 con un margen de error alto.

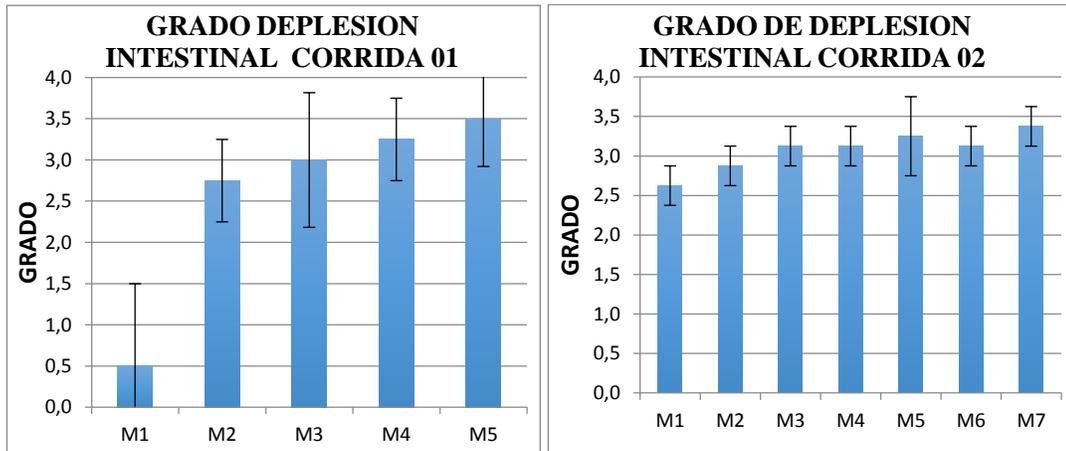


Gráfico 22 (a y b) Grado de depleción intestinal en las larvas de las corridas de producción 1 y 2.

#### 4.1.9.5 Datos de producción.

La tabla 8 indica que los resultados de producción no tuvieron diferencia significativa entre de las 2 corridas evaluadas, a excepción de la supervivencia en la corrida 1 que fue más alta ( $99.53 \pm 1.4$ ). Mientras que los muestreos de crecimiento indican que la primera corrida inicia con 190 pL/ g y termina con un promedio de  $73\text{pL/g}^a \pm 9.5$ , mientras que la corrida 2 inicia con 216 pL/g y termina con  $69\text{ b} \pm 9.27$ , mostrando el gráfico 23 (a y b) que el incremento de crecimiento fue mucho mayor en la corrida 1 hasta el quinto día de cultivo con valores desde 62 a 82 pL/g. Los valores promedios del FCA para la corrida 1 fue de  $2,2 \pm 0.53$ , siendo esta menor en comparación con la corrida 02 que fue de  $2,28 \pm 0.6$ . Los resultados de prueba de estrés aplicada a las larvas fueron de 95,5 % en la primera corrida y 96,3% para la segunda.

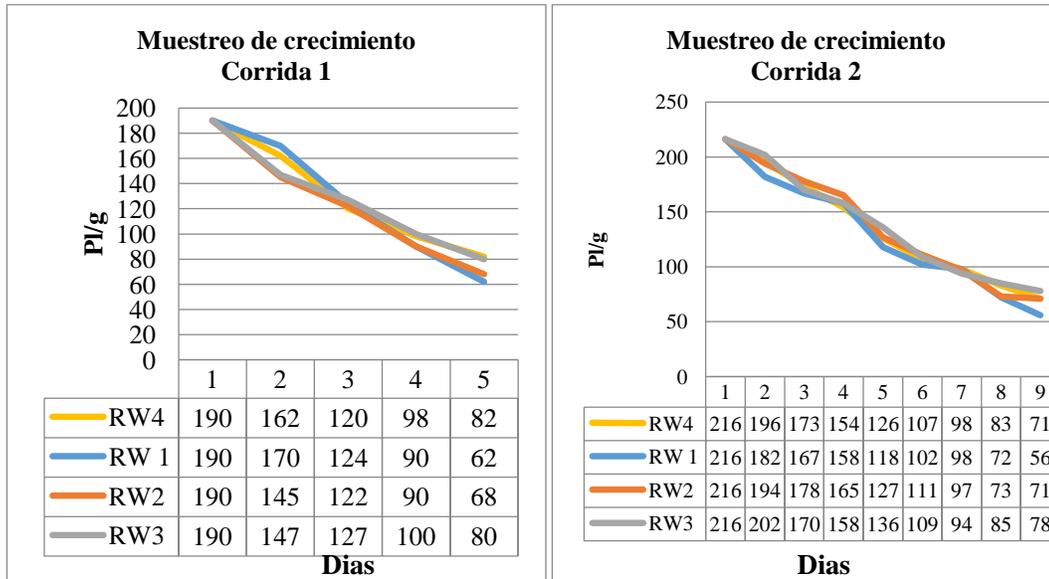


Gráfico 23 (a) Muestreo de Crecimiento de las corridas 1 y 2 (b).

#### 4.1.10 Relación del Fitoplancton y zooplancton

Tanto en la corrida 1 y la corrida 2 existido una relación inversa entre la cantidad de zooplancton respecto a la concentración de fitoplancton a lo largo del ciclo de producción, teniendo un alto porcentaje de correlación del 79 % y 85 % en la corrida 1 y 2 respectivamente (Gráfico 24 y 25).

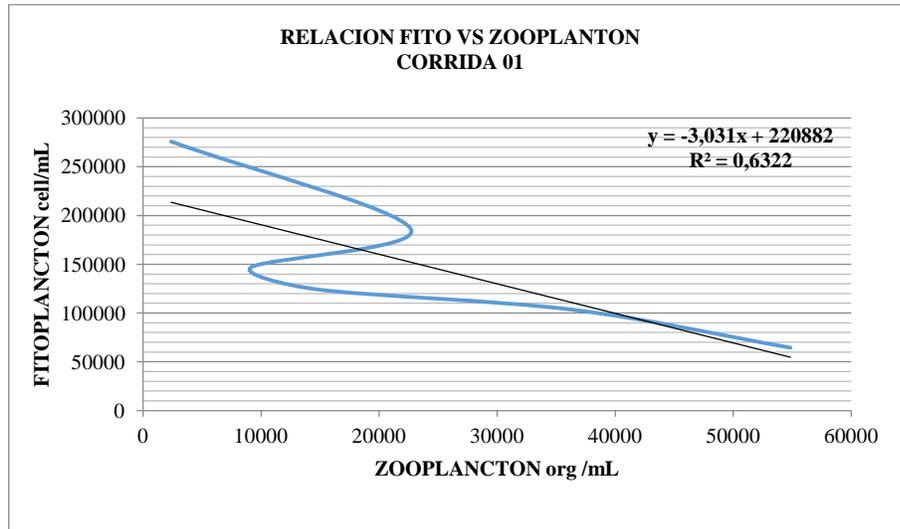


Gráfico 24 Número de células de fitoplancton en Relación con los organismos del zooplancton durante la corrida 01.

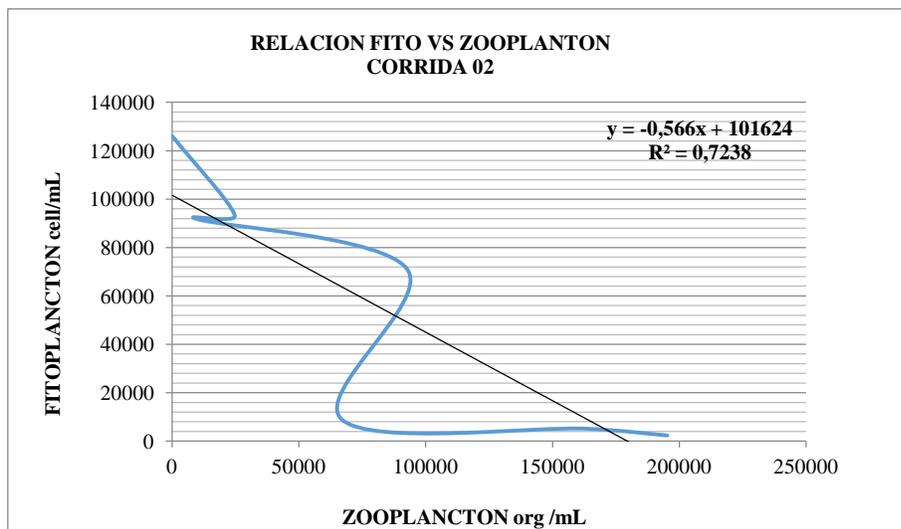


Gráfico 25 Número de células de fitoplancton en Relación con los organismos del zooplancton durante la corrida 02.

#### 4.1.10 Relación zooplancton y bacterias totales

Existe una alta relación positiva entre la concentración de zooplancton y la presencia de bacterias totales tanto en la corrida 01 y 02, (Gráfico 26 y 27) con coeficiente de correlación de 72 y 84% en la corrida 1 y 2 respectivamente.

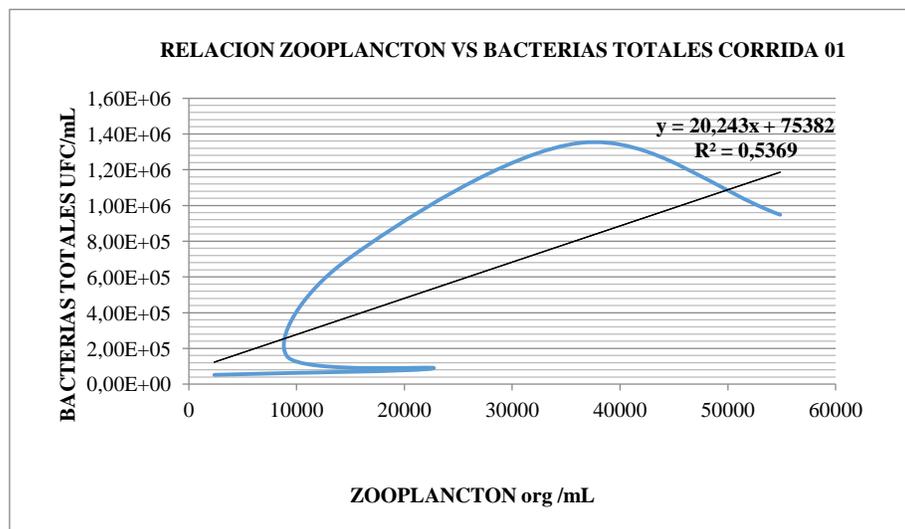


Gráfico 26 Número de bacterias totales en relación con el zooplancton presentes en la corrida 01.

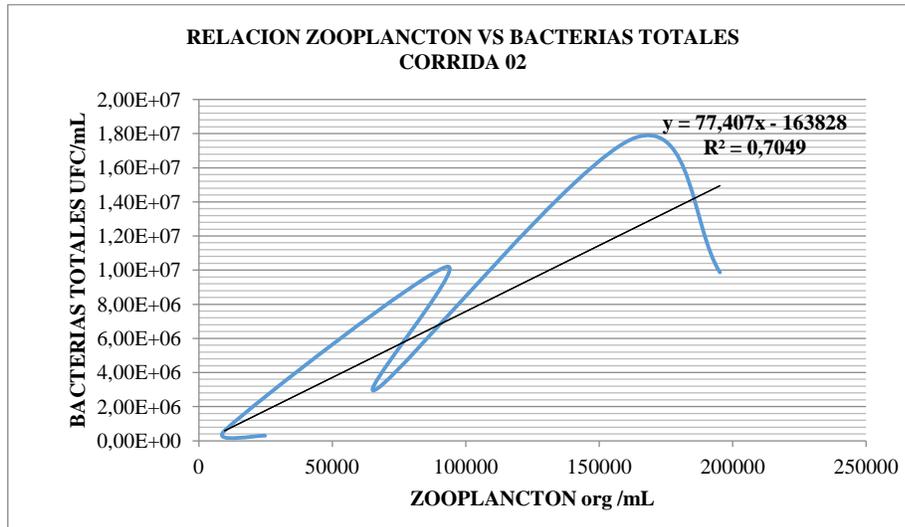


Gráfico 27 Número de bacterias totales en relación con el zooplancton presentes en la corrida 01.

#### 4.1.11 Relación carbono: nitrógeno y bacterias totales

El análisis de regresión lineal indica en el gráfico 28 y 29 que a medida que aumentó la tasa carbono: nitrógeno aumento el número de bacterias totales también aumentó la relación carbono: nitrógeno. En la corrida 01 el coeficiente de relación fue más significativo con el 60%, mientras que en la corrida 02 solo se obtuvo un 38% de correlación entre las dos variables.

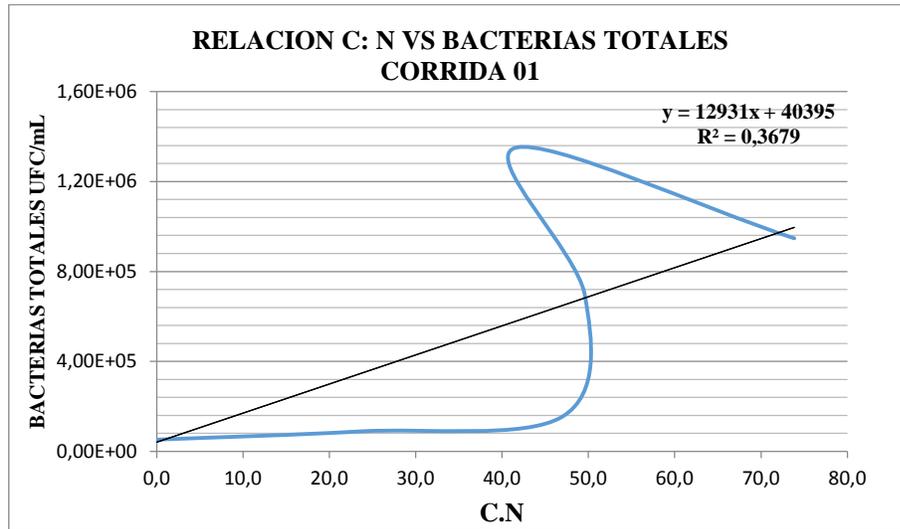


Gráfico 28 Número de UFC de bacterias totales y relación carbono nitrógeno de la corrida 01.

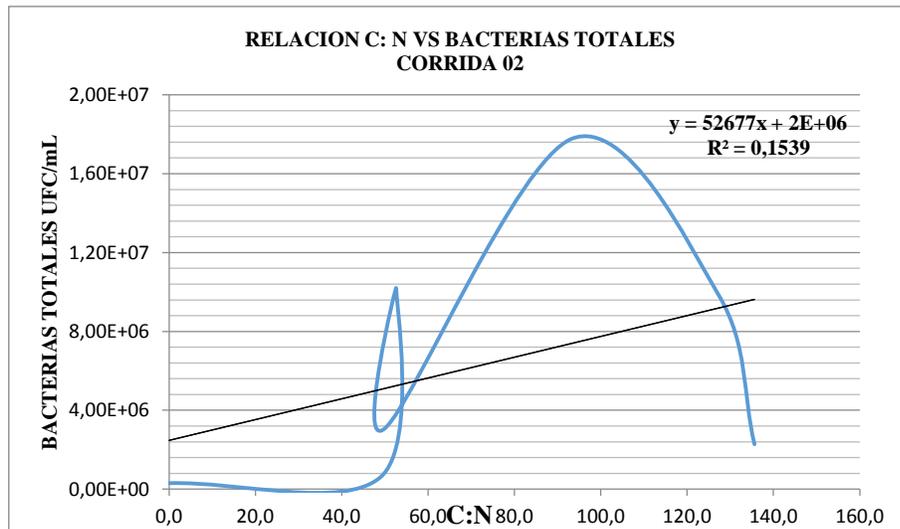


Gráfico 29 Número de UFC de bacterias totales y relación carbono nitrógeno de la corrida 01.

#### 4.1.12 Relación carbono: nitrógeno y el zooplancton

En el análisis de regresión lineal del gráfico 29 y 30 indica la pendiente el aumento del número de organismo zooplanctónicos también incrementó la relación carbono: nitrógeno en ambas corridas evaluadas dando a conocer que por cada incremento en unidad de la relación carbono: nitrógeno le corresponde un incremento de 555,62 org. del zooplancton en la corrida 01 y 1400,9 org. del zooplancton en la corrida 02; indicando también que el coeficiente de relación fue del 72% y 89% para la corrida 1 y 2 respectivamente.

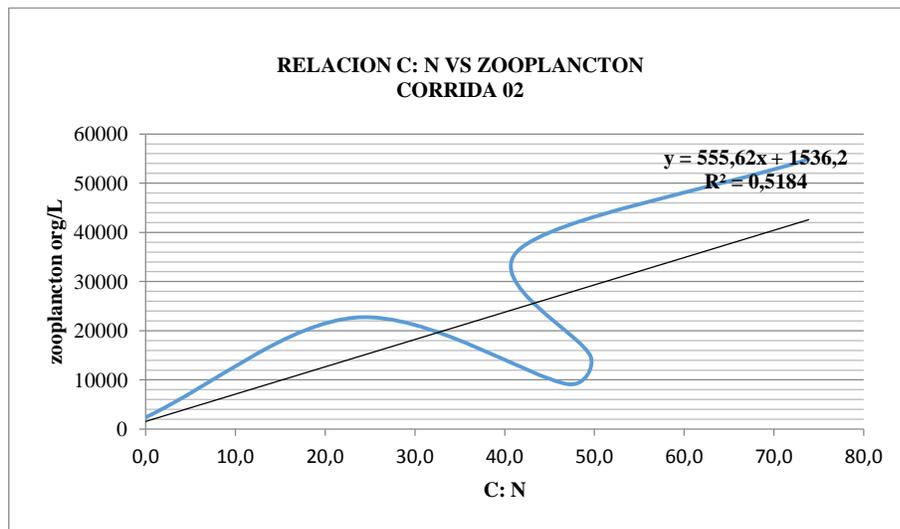


Gráfico 30 Número de organismos zooplanctónicos y relación de carbono:nitrógeno en la corrida 01.

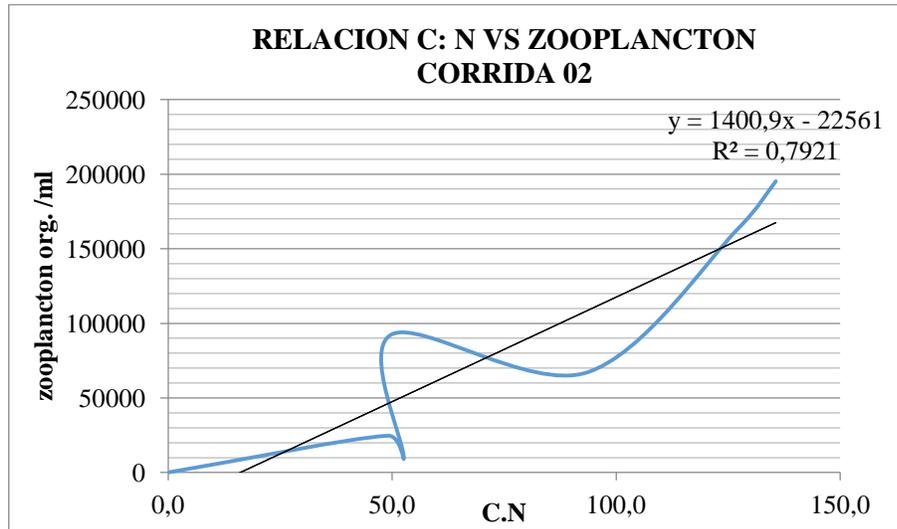


Gráfico 31 Número de organismos zooplanctónicos y relación de carbono: nitrógeno en la corrida 02.

#### 4.1.13 Relación carbono: nitrógeno y la concentración del biofloc de las corridas 01 y 02.

El gráfico 32 de la corrida 01, indica que a medida que incrementó la relación carbono: nitrógeno también incrementó la concentración de biofloc que de acuerdo a la pendiente por cada unidad de relación carbono: nitrógeno le corresponde un incremento de 0,2929 cm<sup>3</sup> en biofloc, con un valor del coeficiente de correlación de  $R = 0,96$  determinando así que existe una relación muy fuerte en las 2 variables. De manera similar se presentó en la corrida 02 (Gráfico 33) con un incremento de 0,2134 cm<sup>3</sup> en biofloc por cada incremento de unidad en la relación carbono: nitrógeno, y con un coeficiente de correlación 93%

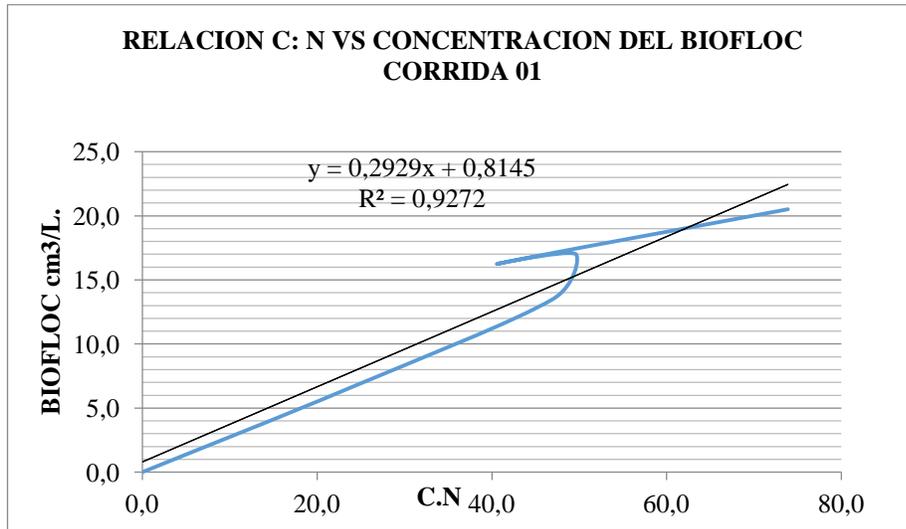


Gráfico 32 Relación carbono: nitrógeno y concentración de biofloc cm<sup>3</sup> / ml. En la corrida 01.

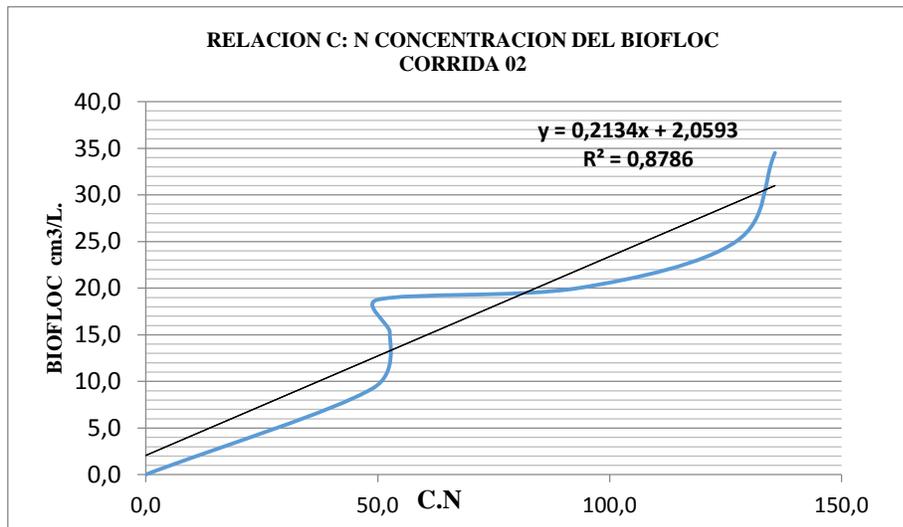


Gráfico 33 Relación carbono: nitrógeno y concentración de biofloc cm<sup>3</sup> / ml. en la corrida 02.

## 4.2 DISCUSIÓN

### 4.2.1 Variables físico-químicas

El oxígeno fue muy estable en las dos 2 corridas evaluadas, sin embargo se presentó una ligera depleción de oxígeno a partir del segundo día de muestreo (Gráfico 1 y 2). Evento originado por la aplicación de sustrato (melaza y polvillo), fertilizantes (urea) y levante de bacterias bio-remediadores. A los 2 días el biofloc se observó su maduración dando lugar a un gran número de microorganismos que consumen oxígeno (Leffler, 2010), sin embargo los promedios de concentraciones de oxígeno no bajaron en demasía (5,43 y 5,78 mg/L respectivamente) pues estuvieron por encima del intervalo recomendado (4,0-5,0 mg/L respectivamente) (Lango, integral aquaculture, 2012), de igual manera la temperatura se mantuvo con promedios aceptables de (28,8-28,9 ° C respectivamente) siendo los rangos establecidos de 25-30 °C para un buen desarrollo bacteriano (Lango, integral aquaculture, 2012). Los valores de pH fueron estables con valores de 8,09- 7,79 en la corrida 1 y 2 respectivamente (rangos óptimos según Landon son de 7,2 – 8).

El amonio total (NH<sub>4</sub>) durante el desarrollo de las larvas en los raceways de las dos corridas fue similar y con valores de 0,22 mg/L ±0.06 (corrida 01) y 0,50 ± 0.16

mg/L (corrida 02) que están dentro de lo recomendado por Avnimelech para el buen funcionamiento del sistema de biofloc (0,5 mg/L) (Avnimelech Y. , 2011).

La curva de compuestos nitrogenados (Gráfico 4) demostró el proceso de nitrificación en ambas corridas (más notable en la segunda) desde el momento en que ésta coincide con la depleción de oxígeno y pH, ya que en la conversión de amonio a nitritos ocurre el mayor consumo de oxígeno (4, 33 mg O<sub>2</sub>/mg N-NH<sub>4</sub> +oxidado) además de generar iones de hidrogeno, dando lugar al descenso del pH (Atencio V., 2013).

Se observó el aumento paulatino de amonio en el transcurso de los días de producción, debido a la descomposición de la carga de materia orgánica producida por el alimento no consumido y heces, que da lugar al aumento de amonio y nitrito en el medio de cultivo (Meade, 1985), también interviene el proceso de reciclaje de nutrientes de las bacterias donde el producto final es el amonio (Crab R, 2007). Sin olvidar que el equilibrio de la concentración amoniaca depende de la temperatura y pH del medio (Bower & Biwell, 1978) & (Timmons, 2002).

Los resultados promedios de nitrito fueron 0,22 mg/L (corrida 1) y 0,26 mg/L (corrida 2), valores que son consecuencia de un sistema de biofloc maduro según esto coincide con Timmons et al (2009) quienes manifiestan que los sistema

heterótrofos puros tiene la característica de un valor de nitrito bajo. Los valores de nitrato (0,79 mg/L y 0,81 mg/L) también están dentro de los rangos establecidos < 60 mg/L.

La máxima concentración de Biofloc fue de 20,5 cm<sup>3</sup> /L en la corrida 1 y 34,5 cm<sup>3</sup> /L en la corrida 2, ajustándose a lo manifestado por Timmons (Timmons M, 2009) y Cedano (Cedano Manuel D., 2013) quienes afirman que la biomasa bacteriana es 40 veces mayor a la generada en el proceso de nitrificación, lo que guarda relación con la acumulación de sólidos en el sistema conforme transcurren los días de cultivo, además los datos de alcalinidad obtenidos de 240 - 295 mg/L CO<sub>3</sub>Ca en la primera corrida y 218 - 295 mg/L CO<sub>3</sub>Ca en la segunda, se sujeta a lo que mencionado por estos investigadores, que existe poco consumo de alcalinidad.

#### **4.2.2 Concentración de bacterias y *vibrios* totales.**

La presencia de las bacterias totales en el medio de cultivo tuvieron una concentración máxima de 1,30 x 10<sup>6</sup> UFC/ml en la corrida 1 y 1,60 x 10<sup>7</sup> UFC/ml en la corrida 2; las mismas que son similares a las obtenidas por el Dr. Avnimelech donde el número de bacterias en estanques fue de 10<sup>6</sup> hasta 10<sup>9</sup> concentraciones que dependen mucho de la materia orgánica del medio

Caravaca-Castro señala que uno de los géneros que predomina en los sistemas de cultivo del Ecuador es el género *Vibrio*, coincidiendo con lo mencionado durante las 2 corridas se observó la presencia de este género, pero que no tuvo mayor incidencia sobre los organismos pues los porcentajes promedio de supervivencia fueron altos (98,8 y 99,53 %) (Carvaca-Castro, 1990.).

La supervivencia comprobada con la prueba de estrés obtenida al final de cada corrida demuestra la calidad de larvas, que concuerda con resultados obtenidos anteriormente por Avnimelech la cual observó una significativa menor infección de la tilapia por *Streptococcus iniae* liberado al agua de los peces desafiados en los sistemas de biofloc, donde menciona estar relacionado con el antagonismo entre el patógeno y otras bacterias que limitan el patógeno. Por lo tanto es posible que un antagonismo similar entre las bacterias heterótrofas y *Vibrio parahaemolyticus*, el agente causante de AHPND (síndrome de la mortalidad temprana o enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas ( por sus siglas en inglés).

#### **4.2.3 Relación C: N**

La relación carbono: nitrógeno (Gráfico 9) presentada en las corridas fue ascendiendo paulatinamente debido a la adición de los substrato (carbono) y el aumento d la concentración de bacterias, Este efecto se da porque los nutrientes

expuestos en el medio favorecen a la microbiota de igual manera si hay un incremento de C:N, también habrá aumento de microorganismos incluyendo el zooplancton, la relación que tuvo la concentración del floc fue muy fuerte con la relación C:N. (Hargreaves A. , 2006)

#### **4.2.4 Composición biológica del floc**

La composición biológica del floc estuvo formada por substrato, cianofitas, diatomeas, chlorofitas, rotíferos, heliozoos y actinopodos, los de mayor dominancia en porcentaje fueron substrato, diatomeas (corrida 1) cianofitas (corrida 2), que son muy comparables con otros estudios (Ray A, 2010) (Cedano Manuel D., 2013), diferenciándose de otros grupos reportados como son las microalgas, ciliados, rotíferos, nematodos, bacterias (*aeromonas*, *vibrios*, *Sphingomonas*, *pseudomonas* y *bacillus*, *nitrospira sp.*, *Nitrobacter* la levadura *Rhodotorula sp.* (María del C. Monroy-Dosta, 2013)

#### **4.2.5 Relación fitoplancton y zooplancton**

Los organismos del fito y zooplancton demostraron una relación negativa, estos no son directamente proporcionales porque cuando el fitoplancton (productores primarios) tiene un mayor número de células, el zooplancton inicia su ingreso como

parte de la cadena trófica, hasta que estos organismos llegan a reproducirse de manera rápida y abundante; los microorganismos encontrados en estas 2 corridas coinciden con los reportados por (Ray A, 2010)

#### **4.2.6 Factor de conversión alimenticia.**

Los datos de factor de conversión alimenticia obtenidos en las 2 corridas se presentaron elevados  $2.2^a \pm 0.53$  y  $2.28^a \pm 0.6$ ; dando a saber que hubo un exceso de alimento en el medio, estos valores están muy lejos a los obtenidos por Nyan Taw quien menciona que son datos ideales de producción aplicando la técnica de biofloc, entre 1.1 y 1,3 (Nyan Taw P. D., 2012)

### 4.3 CONCLUSIONES:

- Al evaluar la dinámica del biofloc se determina que los parámetros físicos y químicos están directamente relacionados con la composición del biofloc y por ende a la producción de las larvas en raceways.
- Los compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato), intervinieron en el proceso de nitrificación, iniciando desde la intervención de las bacterias heterotróficas que oxidaron amonio haciendo que la curva descienda y el nitrito aumente de manera leve hasta que éste se convierta en el nitrato que es un compuesto no tóxico para los organismos.
- El uso del biofloc permite tener larvas con tolerancia a la prueba de estrés de 95,9 %, además de sobrevivir con un porcentaje promedio de 99 % al final de las corridas, estando expuestas a bacterias del género *Vibrios* que se encontraron en el agua.
- Existen técnicas viables aplicadas durante el proyecto que permitirán continuar con posteriores investigaciones sobre la tecnología de biofloc.
- Existe una relación inversa entre el fitoplancton y zooplancton que forman parte del biofloc.

- La relación del C:N y bacterias es positiva, pero con un porcentaje de correlación bajo (36 y 15%); de igual manera la relación con el zooplancton pero su porcentaje de correlación es mucho más alta (51 y 71 %); diferenciándose estas variables con la concentración del floc la cual presentó un porcentaje de correlación alta (92 y 87 %).
- El Floc está compuesto por substrato, cianofitas, diatomeas, ciliados, rizópodos, rotíferos, actinopodos y bacterias totales, en orden de importancia.
- El manejo de cultivo en los raceways de la camaronera de taura, no es completamente satisfactorio por el alto FCA que presentó.

#### **4.4 RECOMENDACIONES:**

- Ejecutar un estudio con el biofloc a diferentes salinidades, para comprobar si ésta variable incide en la composición biológica.
- Establecer una tabla de alimentación para los cultivos con tecnología de biofloc con salinidades bajas cuya finalidad es tener un factor de conversión alimenticia mucho mejor que en cultivos convencionales que se dan en Ecuador.
- Comprobar si las bacterias heterotróficas son antagónicas a los *Vibrios*.
- Realizar un estudio en un cultivo de larvas *L. vannamei* en sistema de raceways con la tecnología de Biofloc en invierno, por la fluctuación de parámetros físicos y químicos que podrían tener entre el agua de lluvia y agua de cultivo.
- Identificar las bacterias heterotróficas que forman parte del biofloc en cultivos con diferentes salinidades.

#### 4.5 BIBLIOGRAFÍA:

- Apha Chairman R., A. E. (1985). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. Sixteenth edition.
- Aquacop, L. M. (1991). Modeling of resistance to salinity shocks of *Penaeus vannamei* postlarvae. *Aquatic Living Resources*, 4, 169-173.
- Arellano, E. (1990). *Guías técnicas en el cultivo de larvas de camarón*. San Pedro de Manglaralto, Ecuador: Calderón, J., y Sonnenholzner.
- Atencio V. (2013). Ciclo del nitrógeno. *Curso teórico práctico tecnología de cultivo de biofloc, fundamentos y manejo*, (pp. 20-22). Córdova.
- Auró, A. y. (2006). *El libro del camarón*. México.
- Avnimelech Y, V. M. (2008 ). Sustainable Land based Aquaculture: Rational Utilization of water, Land and feed Resources. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 45-55.
- Avnimelech Y. (2012). Del The Shrimp book. Producción Intensiva de camarones. *Global Aquaculture Advocate*, 14-15.
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.
- Avnimelech, Y. (2011). Tilapia production using Biofloc technology saving water, waste recycling improves economics. *Global aquacultureadvocate*, 66-68.
- Bower & Biwell. (1978). Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature,, Ph and salinity,. *Journal of fisheries Research Board of Canada*, 25: 1012-1016.
- Boyd, C. y. (1998). *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Boston, EE.UU.: Kluwer Academic Publishers.
- Carvaca-Castro, F. (1990.). *Manual Práctico de Bacteriología Marina*. Escuela Superior politécnica del litoral (ESPOL). . Guayaquil, Ecuador: FONAGRE-CAF.

- Cedano M., L. A. (2013). Crianza de *Oreochromis niloticus* Var chitralada en sistema bio-floc en la empresa PRODUMAR SA., *Rebiolest*, 79-89.
- Cedano Manuel D., e. a. (2013). Crianza de *Oreochromis niloticus* Var chitralada en sistema bio-floc en la empresa PRODUMAR SA, Guayaquil (Ecuador). *Rebiolest*, 79-91.
- Cesasin. (2003). Técnicas de Bacteriología, Análisis en Fresco, Calidad de Agua y Buenas Prácticas de Manejo y Bioseguridad en Granjas Camaroneras., (p. 6).
- Ching, A. (2007). LA ALCALINIDAD EN EL AGUA DE CULTIVO DEL CAMARÓN DE MAR . *Boletines Nicovita*, 1-2.
- Conda. (2010). AGAR SOJA Y TRIPTICASEINA (T.S.A). *Pronadisa*, 1-2.
- CPC. (1989). Libro blanco del camarón.
- Crab R, A. Y. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270, 1-14.
- CreveTec, E. D. (2012). *Producción de camarones en sistemas de cultivo intensive con bioflocs*. Bélgica: Aquafeed International.
- Crockett. (2013). Sistema de precriaderos someros utiliza concepto de Biorreactor para la producción de camarones juveniles. *Global aquaculture advocate.*, 71-75.
- Cruz, A. L. (2006). *CORRELACIÓN DEL MÉTODO KJENDAHL TRADICIONAL CON EL MÉTODO DUMAS AUTOMATIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN GRANOS*. Carr. Pachuca – Tulancingo.
- Dr. A. Venkateswara Rao, P. D. (2012). *Vibriosis en la acuicultura del camarón*. India: Corporate Centre.
- Durán, R. R. (1991). *Stress-tests: a practical tool to control postlarval shrimp quality*. *Larvi 91 Fish & Crustacean larviculture symposium*. Gent. Belgium: European aquaculture society. Special publication No 15.
- Edemar, R. B. (1996). Despesca e Transport de pós-larvas. Curso internacional de "Producao de pós-larvas de camarão marinho". 153-156.

- Emerenciano M., B. E. (2012). Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research*, 43,447-457.
- FAO. (1989). Consultoria en cultivo de camarón.
- Hargreaves, A. (2006). Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquaculture Engineering*, 34, 344-63.
- Hargreaves, J. (2013). *Biofloc Production Systems for aquaculture*. United States: Southern Regional Aquaculture Center.
- Heinz Streble, M. R. (1987). *Atlas de los microorganismos de agua dulce*. Barcelona: Omega S.A.
- Hopkins, T. E. (1995). Interactions of cortisol and nitrogen metabolism in the ureogenic gulf toadfish *Opsanus beta*. . *The Journal of Experimental Biology* 198, 2229–2235.
- Judith, G. (2003). *Técnicas de bacteriología, Análisis en fresco, calidad de agua y buenas prácticas de manejo y bioseguridad en granjas camaroneras*. Mazatlán,.
- Kuhn D. (2011). ¿Qué beneficios trae el biofloc al camarón? *Global Aquaculture Advocate*, 76-77.
- Kuhn D., G. B. (2009). Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish mela and sybena protein in shrimp feed. *Aquaculture* 296, 51-57.
- Kuhn D., y. L. (2012). Opciones de tecnología de biofloc para acuicultura. *Global Aquaculture Advocate*, 16 (4), 20-21.
- Kunh D., A. L. (2010). Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 303, 28-33.
- Lango, J. (2012). Integral Aquaculture. *Acuacultura Scoop, Issue1*, 9-11.
- Leffler John W., A. I. (2009). *Monitoring tools for characterizing and managing microbial biofloc communities in superintensive zero-exchange shrimp culture systems*.

- Leffler, J. W. (2010). *OXYGEN DEMAND, ECOLOGICAL ENERGETICS AND NUTRIENT DYNAMICS IN MINIMAL EXCHANGE, SUPERINTENSIVE, BIOFLOC SYSTEMS CULTURING PACIFIC WHITE SHRIMP, Litopenaeus vannamei*. south california.
- Lignot, J. H.-P. (2000). Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* , 209-245.
- Limsuwan, C. (2005). Cultivo intensivo de camarón blanco. *Boletín Nicovita*.
- Linsan. (2000). Agar TCBS (Agar Tiosulfato-citrato- bilis - sacarosa. *Tecnología Biológica de Diagnóstico*, 1.
- María del C. Monroy-Dosta, R. d.-A.-M.-M. (2013). Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de biología marina y oceanografía.*, 511-520.
- Martínez Cordova, L. M. (2009). Camaronicultura Mexicana y Mundial. *Revista Internacional de Contaminación ambiental* 25 (3), 181-196.
- Meade, J. (1985). Allowade ammonia for fish culture. *Programa ammonian for fish.*, 135-145.
- Morales, V. (1990). levantamiento larvario de camarones peneidos. *Pradepesca*, 1.
- Navarrete A. (2013). *slideshare.net*. Retrieved from [http://www.slideshare.net/proesa\\_sv/foro-acucola-2013-6-armando-navarrete-megatec](http://www.slideshare.net/proesa_sv/foro-acucola-2013-6-armando-navarrete-megatec)
- Neal R. S., S. C. (2010). Evaluation of stocking density and light level on the growth and survival of the pacific white shrimp, *Litopennaeus vannamei*, reared in zero-exchange systems. *Journal of the world Aquaculture Society*, 41, 533-534.
- Nyan Taw, P. D. (2012). Desarrollos recientes en tecnología de biofloc. *Global Aquaculture Advocate*, 28-29.
- Nyan Taw, P. D. (2012). Desarrollos recientes en tecnología de biofloc. . *Global Aquaculture Advocate* , 28-29.

- Nyan, T. (2011). *Expanding pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) Farming in biofloc system*. Kochi, India: Blue Archipelago.
- Otoshi, C. (2011). Establishing Nitrifying bacteria in super-Intensive biofloc shrimp production. *Global Aquaculture Advocate*, 24-25.
- P. De Schryver, R. C. (2008). The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture*, 125–137.
- Ray A, V. J. (2010). Simple Settling Chambers Aid Solids Management In Biofloc System. *Global Aquaculture advocate.*, 28-30.
- Sebastian, A. (2010). EXPERIENCIAS DE MANEJO DE RACEWAYS EN EL CULTIVO DE CAMARÓN. *Boletines Nicovita* , 1.
- Sierra De la Rosa J., M. P. (2007). Evaluación del cultivo de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) y tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en diferentes sistemas intensivos de granjas camaroneras como alternativa productiva en el sector camaronicultor colombiano. *Corporation Centro de investigación de la Acuicultura de Colombia - Ceniagua, Cartagena*, 48.
- Sierra, J. (2012). Cultivo de tilapia roja en un sistema super intensivo de agua marina y biofloc. *Ceniagua*, (pp. 1-51). Colombia.
- Streble, H. (1987). *Atlas de los microorganismos de Agua Dulce*. Barcelona: Omega S.A.
- Timmoms M, E. J. (2009). *Acuicultura en Sistemas de Recirculación*. U.S.A: LIMUSA.
- Timmons, M. E. (2002). Recirculating aquaculture systems. *NRAC Publication vol 01-002*.
- Van Olst, J. C. (1972). Shrimp farming. *Aquaculture systems international. Sorrento valley road.*, San Diego California.
- Vinatea L., A. G. (2010). Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: interaction of water quality variables. *Aquacultural Engineering*, 42, 17–24.

#### 4.6 WEB:

- Tecnología raceways super intensivo:  
<http://www.aquafeed.com/nl2.php?id=542>
- Historia de bft:  
[http://cdn.intechopen.com/pdfs/44409/InTech-Biofloc\\_technology\\_bft\\_a\\_review\\_for\\_aquaculture\\_application\\_and\\_animal\\_food\\_industry.pdf](http://cdn.intechopen.com/pdfs/44409/InTech-Biofloc_technology_bft_a_review_for_aquaculture_application_and_animal_food_industry.pdf)
- Remoción de solidos suspendidos:  
[http://issuu.com/designpublications/docs/panorama\\_acuicola\\_16-3](http://issuu.com/designpublications/docs/panorama_acuicola_16-3)
- [http://cdn.intechopen.com/pdfs/44409/InTech-Biofloc\\_technology\\_bft\\_a\\_review\\_for\\_aquaculture\\_application\\_and\\_animal\\_food\\_industry.pdf](http://cdn.intechopen.com/pdfs/44409/InTech-Biofloc_technology_bft_a_review_for_aquaculture_application_and_animal_food_industry.pdf)
- <https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/259/>
- Relación C:N : <http://www.slideshare.net/201992/bioqumca>
- <http://books.google.com.ec/books?id=p7ocOAjnR5sC&pg=PT315&lpg=PT315&dq=BIOFLOC+DYNAMICS+IN+SUPER-INTENSIVE+SHRIMP+RACEWAYS&source=bl&ots=Gc8Eb9aoa&sig=MAAP0mszl3HPHI8rv-B4W8xMiEg&hl=es-419&sa=X&ei=9wJKUenhOsLA4AO44YDACQ&ved=0CGEQ6AEwBw>

- Tecnología biofloc, composición : <http://www.scribd.com/doc/97783777/The-Biofloc-Technology-BFT-in-Indoor-Tanks-Water-Quality-Biofloc-Composition-And-Growth-and-Welfare-of-Nile-Tilapia-Oreochromis-Niloticus-2>
- Métodos analíticos para agua residuales : [http://www.ciencias-marinas.uvigo.es/bibliografia\\_ambiental/otros/Manual%20de%20fitodepuracion/Capitulos%20Anexos1.pdf](http://www.ciencias-marinas.uvigo.es/bibliografia_ambiental/otros/Manual%20de%20fitodepuracion/Capitulos%20Anexos1.pdf)
- Caracterización del biofloc: <http://www.scielo.cl/pdf/gayana/v71n1/art06.pdf>
- Sanidad acuícola en camarón:  
<http://www.cesaibc.org/pdf/Protocolosanitariocrustaceos/Protocolo%20Sanitario%20Final.pdf>
- Parámetros :  
[http://digeset.ucol.mx/tesis\\_posgrado/Pdf/Maria%20Cruz%20Rivera%20Rodriguez.pdf](http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Maria%20Cruz%20Rivera%20Rodriguez.pdf)
- Producción intensiva de camarones: <http://www.gaalliance.org/mag/2012/SP-Jul-Aug/download.pdf>
- Rendimiento del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* criado en sistemas biofloc: <http://www.interfishexpert.com/performance-of-pacific-white-shrimp-litopenaeus-vannamei-raised-in-biofloc-systems-with-varying-levels-of-light-exposure/>

- Sobrevivencia:  
[http://digeset.ucol.mx/tesis\\_posgrado/Pdf/Maria%20Cruz%20Rivera%20Rodriguez.pdf](http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Maria%20Cruz%20Rivera%20Rodriguez.pdf)
- <http://aquafeed.co/produccion-de-camarones-en-sistemas-de-cultivo-interiores-con-bioflocs/>
- [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus\\_vannamei/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/es)
- [http://www.alicorp.com.pe/ohs\\_images/nicovita/boletines/2010/Bol\\_Ene\\_Mar\\_2010.pdf](http://www.alicorp.com.pe/ohs_images/nicovita/boletines/2010/Bol_Ene_Mar_2010.pdf)
- [http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2011/09/30/nueva\\_tecnologia\\_podria\\_cambiar\\_la\\_forma\\_de\\_cultivo\\_del\\_camaron.html](http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2011/09/30/nueva_tecnologia_podria_cambiar_la_forma_de_cultivo_del_camaron.html)
- <http://www.fao.org/figis/servlet/tabselector>
- [http://digeset.ucol.mx/tesis\\_posgrado/Pdf/Humberto%20Manzo%20Delgado.pdf](http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Humberto%20Manzo%20Delgado.pdf)
- <http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/jspui/bitstream/123456789/4748/1/SUPERVIVENCIADELCAMARONBLANCOLITOPENAEUSVANNAMEIBOONE1931ENUNAGRANJACOMERCIAL.pdf>
- <http://www.recercat.cat/bitstream/handle/2072/179057/P-175-Carb%C3%B3R.pdf?sequence=36>
- [www.cna-ecuador.com](http://www.cna-ecuador.com)
- [http://issuu.com/revista-cna/docs/aqua\\_cultura\\_94/1](http://issuu.com/revista-cna/docs/aqua_cultura_94/1)
- <http://www.proyectosperuanos.com/langostinos.html>

- [http://www.ecuadorlibre.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=52:cap-no-150-qla-acuicultura-en-ecuador-el-camaron-y-la-tilapiaq&catid=3:capsula-de-entorno-economico&Itemid=12](http://www.ecuadorlibre.com/index.php?option=com_content&view=article&id=52:cap-no-150-qla-acuicultura-en-ecuador-el-camaron-y-la-tilapiaq&catid=3:capsula-de-entorno-economico&Itemid=12)
- [http://www.nicovita.com.pe/cdn/Content/CMS/Archivos/Documentos/DOC\\_11\\_1.pdf](http://www.nicovita.com.pe/cdn/Content/CMS/Archivos/Documentos/DOC_11_1.pdf)
- <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/8571/1/01cheise.pdf>
- [http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/6290/10/10\\_chapter%205.pdf](http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/6290/10/10_chapter%205.pdf)
- <http://www.bluearchipelago.com/wp-content/uploads/2011/06/MANCO-PENANG-2011-NTaw-16th-Waste-water.pdf>
- <http://aesweb.fni.com/biofloc/veracruz2009/Ray.pdf>
- <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/8571/1/01cheise.pdf>
- Precria intensivas en latinoamérica:
- [http://www.nicovita.com.pe/cdn/Content/CMS/Archivos/Documentos/DOC\\_270\\_1.pdf](http://www.nicovita.com.pe/cdn/Content/CMS/Archivos/Documentos/DOC_270_1.pdf)
- COMPARACION DE RESULTADOS:
- [http://www.industriaacuicola.com/PDFs/avances\\_biofloc.pdf](http://www.industriaacuicola.com/PDFs/avances_biofloc.pdf)

## ANEXOS

### TABLAS

Tabla 1 Parámetros de calidad de agua para la estabilización del floc. (Lango, Integral Aquaculture, 2012)

| Parámetro de calidad de agua | Intervalo recomendado |
|------------------------------|-----------------------|
| Temperatura                  | 25-30 °C              |
| Oxígeno Disuelto             | 4.0-5.0 mg/L          |
| CO2                          | < de 15 ppm           |
| pH                           | 7.2-8.0               |
| Dureza total                 | >150 mg/L             |
| Alcalinidad Total            | >100 mg/L             |
| Amonio no ionizado           | <0.03 mg/L            |
| Nitrito (NO2)                | <1 mg/L               |
| Nitrato (NO3)                | <de 60 mg/L           |

Tabla 2 Sustrato y fertilizantes para elaboración de biofloc.

| Sustratos y fertilizantes  |  |
|--|--|
| <b>1) Melaza 100 ml / t *</b>  | Diluidos en 30 L de agua.  |
| <b>2) Urea 15,56 g / t**</b>   | Diluidos en 30 L de agua.  |
| <b>3) Bacteria POND PRO :*</b>   | 2,50 g / ton diluidos en agua x  |
| Composición:   | 15 minutos con aireación   |
| Microorganismos heterotróficos   |  |
| Bacterias enzimas >5 %   |  |
| Bacterias 5 billones UFC/ g.   |  |
| <b>4) Bacteria AQUAPRO ***</b>   | 1,5 g/ton diluidos en agua por<br>15 minutos con aireación                   |
| Composición:   |  |
| Microorganismos heterotróficos   |  |
| Bacterias enzimas >5 %   |  |
| Bacterias 5 billones UFC/ g.   |  |
| <b>5) Polvillo de arroz 134g / t **</b>  | fueron divididas en 2 partes (la<br>segunda se adicionó el día<br>siguiente) |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>*Todos los días desde inicio de biofloc</b></li> <li>• <b>** Se aplica solo el día cero de biofloc</b></li> <li>• <b>*** Se aplica desde un día antes de la siembra</b></li> </ul> |  |

Tabla 3 Evaluación de la prueba de estrés de salinidad.

| <b>PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA</b> | <b>EVALUACIÓN</b> |
|------------------------------------|-------------------|
| <b>90 a 100%</b>                   | Excelente         |
| <b>85%</b>                         | Aceptable         |
| <b>80%</b>                         | Regular           |
| <b>&lt; 80%</b>                    | No aceptable      |

Tabla 4 Promedio Oxígeno, temperatura, pH y salinidad en cada raceways a lo largo de las dos corridas de producción.

|                  | <b>Oxígeno mg/L</b> | <b>Temperatura (°C)</b> | <b>pH</b>   | <b>SALINIDAD ppt</b> |
|------------------|---------------------|-------------------------|-------------|----------------------|
| <b>Corrida 1</b> |                     |                         |             |                      |
| <b>Rw 1</b>      | 5.54 ± 0.48         | 28.38 ± 1.06            | 8.12 ± 0.16 | 4.14 ± 0.08          |
| <b>Rw 2</b>      | 5.34 ± 0.58         | 28.88 ± 1.21            | 8.00 ± 0.51 | 4.14 ± 0.08          |
| <b>Rw3</b>       | 5.35 ± 0.71         | 29.09 ± 1.06            | 8.12 ± 0.20 | 4.15 ± 0.09          |
| <b>Rw 4</b>      | 5.48 ± 0.93         | 29.16 ± 1.21            | 8.07 ± 0.20 | 4.15 ± 0.09          |
| <b>Corrida 2</b> |                     |                         |             |                      |
| <b>Rw 1</b>      | 5.99 ± 0.87         | 28.77 ± 1.06            | 7.80 ± 0.36 | 4.31 ± 0.11          |
| <b>Rw 2</b>      | 5.87 ± 0.80         | 29.09 ± 1.06            | 7.80 ± 0.34 | 4.32 ± 0.11          |
| <b>Rw3</b>       | 5.99± 0.77          | 29.07 ± 1.06            | 7.73± 0.41  | 4.32± 0.10           |
| <b>Rw 4</b>      | 6.02 ± 0.71         | 29.00 ± 1.06            | 7.80 ± 0.37 | 4.32± 0.10           |

Tabla 5 Promedios de Amonio, nitrito, nitrato y sólidos sedimentados de cada raceways a lo largo de las dos corridas de producción.

|                  | <b>Amonio mg/L</b> | <b>Nitrito mg/L</b> | <b>Nitrato mg/L</b> | <b>Solidos S, cm3/L</b> |
|------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|
| <b>Corrida 1</b> |                    |                     |                     |                         |
| <b>Rw 1</b>      | 0,22± 0.06         | 0,23± 0.16          | 1.03± 0.81          | 12.25± 6.76             |
| <b>Rw 2</b>      | 0.23± 0.09         | 0.20± 0.07          | 0.74± 0.58          | 12.83 ± 8.54            |
| <b>Rw3</b>       | 0.32± 0.21         | 0.22± 0.11          | 0.74± 0.25          | 12.50 ± 8.14            |
| <b>Rw 4</b>      | 0.36 ± 0.22        | 0.22± 0.07          | 0.64 ± 0.37         | 11.67± 7.50             |
| <b>Corrida 2</b> |                    |                     |                     |                         |
| <b>Rw 1</b>      | 0.43 ± 0.26        | 0.23 ± 0.22         | 0.46 ± 0.22         | 16.43 ± 11.57           |
| <b>Rw 2</b>      | 0.41 ± 0.32        | 0.30 ± 0.29         | 1.19 ± 1.07         | 19.14± 15.44            |
| <b>Rw3</b>       | 0.44± 0.23         | 0.29± 0.27          | 0.90± 0.70          | 17.29± 10.99            |
| <b>Rw 4</b>      | 0.50 ± 0.16        | 0.23 ± 0.21         | 0.70 ± 0.36         | 17.29 ±9.42             |

Tabla 6 Promedio de Diatomeas, cianofitas y clorofitas en cada raceways durante el periodo de dos corridas.

|                   | Diatomeas cel/mL |                    | Cianofitas cel/mL |                |
|-------------------|------------------|--------------------|-------------------|----------------|
|                   | Centrales        | Penales            | Hormogonales      | Chroococcales  |
| <b>Corrida 1</b>  |                  |                    |                   |                |
| <b>Muestreo 1</b> | 37± 74           | 139366 ±<br>109941 | 1838 ± 1323       | 131552 ± 94591 |
| <b>Muestreo 2</b> | 147± 294         | 84966 ± 34674      | 478 ± 74          | 95881 ± 32750  |
| <b>Muestreo 3</b> | 919± 439         | 56301 ± 14452      | 74 ± 147          | 84966 ± 5486   |
| <b>Muestreo 4</b> | 809 ± 350        | 46562 ± 16995      | 0 ± 0             | 71736 ± 14272  |
| <b>Muestreo 5</b> | 404± 185         | 37926± 28055       | 0 ± 0             | 57992 ± 10230  |
| <b>Muestreo 6</b> | 110 ± 74         | 23263 ± 10785      | 0 ± 0             | 31274 ± 2674   |
| <b>Corrida 2</b>  |                  |                    |                   |                |
| <b>Muestreo 1</b> | 0 ± 0            | 37301 ± 11277      | 4447 ± 326        | 76697 ± 24971  |
| <b>Muestreo 2</b> | 0 ± 0            | 28004 ± 2717       | 7828 ± 12058      | 49355 ± 12726  |
| <b>Muestreo 3</b> | 0 ± 0            | 30282 ± 8735       | 0 ± 0             | 55750 ± 15537  |
| <b>Muestreo 4</b> | 0 ± 0            | 22601 ± 7986       | 0 ± 0             | 44762± 19224   |
| <b>Muestreo 5</b> | 0 ± 0            | 2903 ± 1486        | 257± 251          | 4153 ± 2115    |
| <b>Muestreo 6</b> | 0 ± 0            | 1176± 208          | 0 ± 0             | 3565 ± 1317    |
| <b>Muestreo 7</b> | 0 ± 0            | 809± 85            | 0 ± 0             | 1323 ± 523     |

| <b>Clorofitas cel/mL</b> |                 |                 |
|--------------------------|-----------------|-----------------|
|                          | <b>&lt; 10u</b> | <b>&gt; 10u</b> |
| <b>Corrida 1</b>         |                 |                 |
| <b>Muestreo 1</b>        | 735± 318        | 2279± 1576      |
| <b>Muestreo 2</b>        | 2499 ± 1435     | 2352 ± 624      |
| <b>Muestreo 3</b>        | 2609± 1317      | 1838 ± 424      |
| <b>Muestreo 4</b>        | 3896 ± 1179     | 1250 ± 488      |
| <b>Muestreo 5</b>        | 5549± 1589      | 1397± 516       |
| <b>Muestreo 6</b>        | 8306 ± 3438     | 1397± 641       |
| <b>Corrida 2</b>         |                 |                 |
| <b>Muestreo 1</b>        | 4741 ± 3087     | 2830 ± 542      |
| <b>Muestreo 2</b>        | 5917 ± 1970     | 2095 ± 940      |
| <b>Muestreo 3</b>        | 3822 ± 750      | 1985 ± 85       |
| <b>Muestreo 4</b>        | 1948± 1202      | 1691± 964       |
| <b>Muestreo 5</b>        | 0735± 837       | 809± 569        |
| <b>Muestreo 6</b>        | 0 ± 0           | 331± 251        |
| <b>Muestreo 7</b>        | 0 ± 0           | 147± 208        |

Tabla 7 Promedios de Ciliados, Rotíferos, Rizópodos y Actinopodos presentes en el agua con BFT.

| <b>Ciliados</b>   |                  |                  |                   |
|-------------------|------------------|------------------|-------------------|
|                   | Holotricha org/L | Peritricha org/L | Spirotricha org/L |
| <b>Corrida 1</b>  |                  |                  |                   |
| <b>Muestreo 1</b> | 35200 ± 14370    | 0±0              | 35200±56347       |
| <b>Muestreo 2</b> | 52800 ± 32133    | 40200±17507      | 101200±59900      |
| <b>Muestreo 3</b> | 70400±38020      | 30800±8800       | 475200±214595     |
| <b>Muestreo 4</b> | 27600±31870      | 372600±158550    | 469200±114908     |
| <b>Muestreo 5</b> | 27600 ± 31870    | 621000±355958    | 1973400±380773    |
| <b>Muestreo 6</b> | 0 ±0             | 3215400±1036991  | 1007400±1757393   |
| <b>Corrida 2</b>  |                  |                  |                   |
| <b>Muestreo 1</b> | 440 ±880         | 0±0              | 3960±880          |
| <b>Muestreo 2</b> | 52800±20323      | 0±0              | 515200±57467      |
| <b>Muestreo 3</b> | 66000±36283      | 53400±14420      | 558800±286822     |
| <b>Muestreo 4</b> | 198400±114546    | 5307200±851427   | 818400±495173     |
| <b>Muestreo 5</b> | 37193±25207      | 4513600±3740336  | 248000± 236143    |
| <b>Muestreo 6</b> | 0±0              | 12152000±4428588 | 198400±268635     |
| <b>Muestreo 7</b> | 0±0              | 14880000±4950070 | 148800±171819     |

|                   | <b>Rotíferos org/L</b> | <b>Rizopodos org/L</b> | <b>Actinopodos org/L</b> |
|-------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Corrida 1</b>  |                        |                        |                          |
| <b>Muestreo 1</b> | 123200 ±38020          | 0±0                    | 0±0                      |
| <b>Muestreo 2</b> | 57200±36283            | 0±0                    | 0±0                      |
| <b>Muestreo 3</b> | 26400±10161            | 26400±10161            | 127600±80493             |
| <b>Muestreo 4</b> | 27600±31870            | 138000±31870           | 165600±78065             |
| <b>Muestreo 5</b> | 0±0                    | 179400±82800           | 110400±63739             |
| <b>Muestreo 6</b> | 0±0                    | 138000±95609           | 27600±31870              |

| <b>Corrida 2</b>  |              |              |                |
|-------------------|--------------|--------------|----------------|
| <b>Muestreo 1</b> | 31240±22418  | 30800±16851  | 0±0            |
| <b>Muestreo 2</b> | 26400±10161  | 30800±16851  | 0±0            |
| <b>Muestreo 3</b> | 30800±8800   | 22000±18700  | 123200±59250   |
| <b>Muestreo 4</b> | 173600±49600 | 78800±40800  | 1016800±721619 |
| <b>Muestreo 5</b> | 99200±114546 | 223200±94977 | 372000±284930  |
| <b>Muestreo 6</b> | 0±0          | 99200±0      | 644800±128067  |
| <b>Muestreo 7</b> | 0±0          | 0±0          | 595200±388445  |

Tabla 8 Datos de producción de las larvas durante las 2 corridas evaluadas.

|                  | <b>Supervivencia</b>     | <b>Pl/g</b>          | <b>Pl/g</b>            | <b>TEC</b>                  | <b>FCA</b>              |
|------------------|--------------------------|----------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|
|                  | <b>%</b>                 | <b>Inicial</b>       | <b>Final</b>           |                             |                         |
| <b>Corrida 1</b> | 99.53 <sup>a</sup> ± 1.4 | 190 <sup>a</sup> ± 0 | 73 <sup>a</sup> ± 9.5  | 323.3 <sup>a</sup> ± 12.9   | 2.2 <sup>a</sup> ± 0.53 |
| <b>Corrida 2</b> | 98.8 <sup>a</sup> ± 1.06 | 216 <sup>a</sup> ± 0 | 69 <sup>b</sup> ± 9.27 | 327.25 <sup>a</sup> ± 11.32 | 2.28 <sup>a</sup> ± 0.6 |

#### **Supervivencia a prueba de estrés**

**%**

**Corrida 1** 95,5<sup>a</sup> ± 1,9

**Corrida 2** 96,3<sup>a</sup> ± 2,1

## FIGURAS



Figura 1. Foto microscópica de flóculos en lente de 10 X



Figura 2 Conos Imhoff para medir biofloc como la concentración de los sólidos que se depositan después de 10 a 20 minutos.

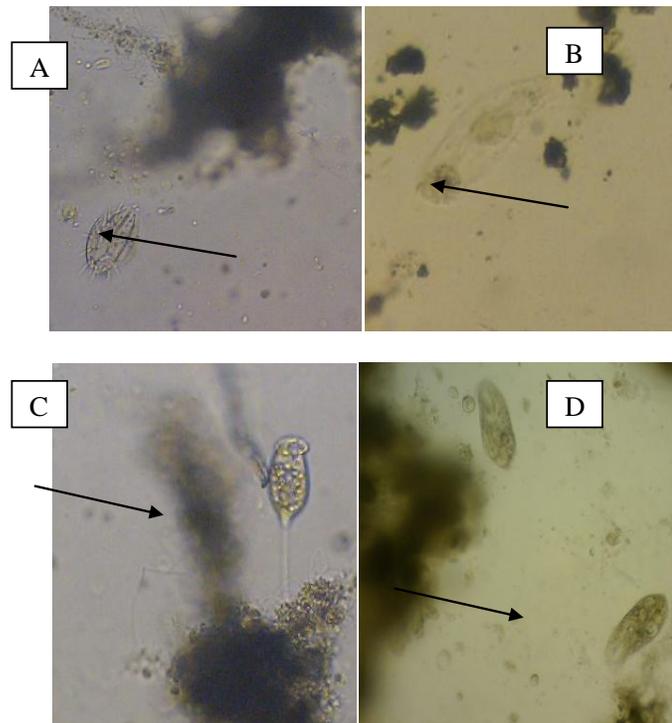


Figura 3 Organismos observados en BFT (a) Ciliados (Spirotricha), (b) rotíferos, (c) Ciliados (Peritricha) y (d) Ciliados (Holotricha) en magnificación 10 x.

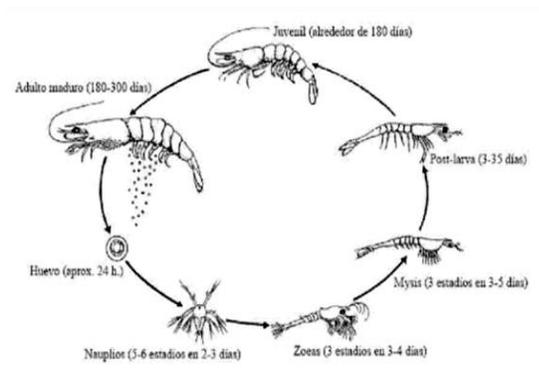


Figura 4 Ciclo de vida del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

Fuente: King, 1968

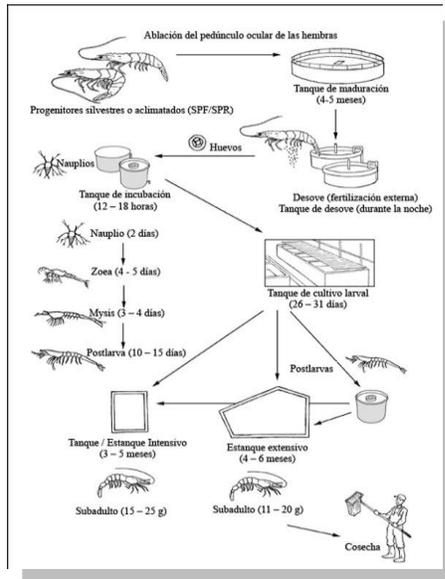


Figura 5 Ciclo de producción del camarón *L. vannamei*. (FAO)



Figura 6 : Camaronera EXPORMEKSA Taura- Guayas.





Figura 7 Raceways con técnica de biofloc. Figura 8 Sistema de aireación (Blowers).



Figura 9 Proceso de desinfección.



Figura 10 Aplicación de sustratos, fertilizantes y bacterias.



Figura 11 Recepción y siembra de las larvas.



Figura 12 Alimentación.



Figura 13 Medición de parámetros físicos.



Figura 14 Medición de parámetros químicos y sólidos sedimentos

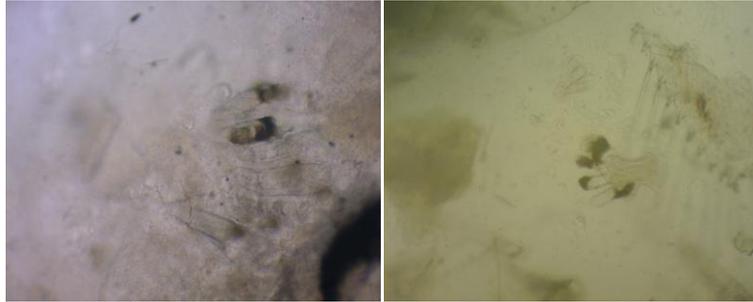


Figura 15 Observación microscópica de las branquias (10x)

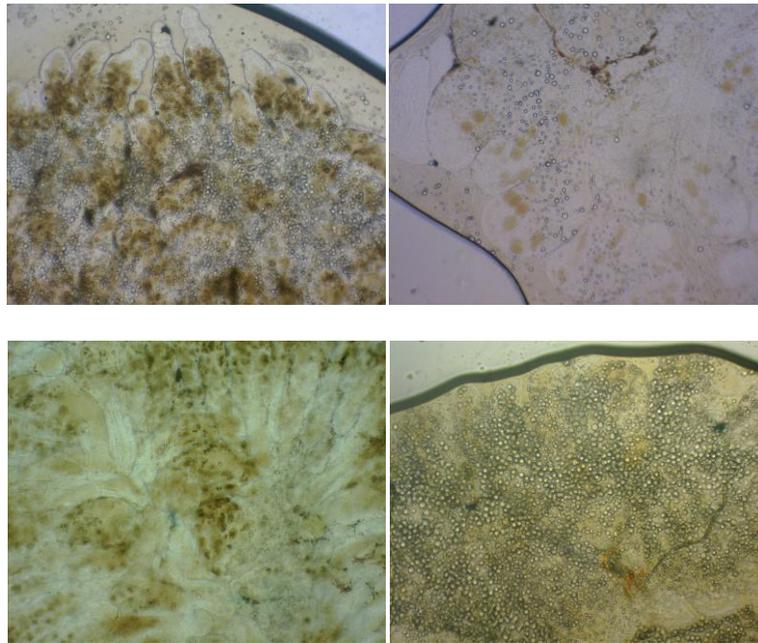


Figura 16 Observación microscópica de túbulos del hepatopáncreas (10 X)

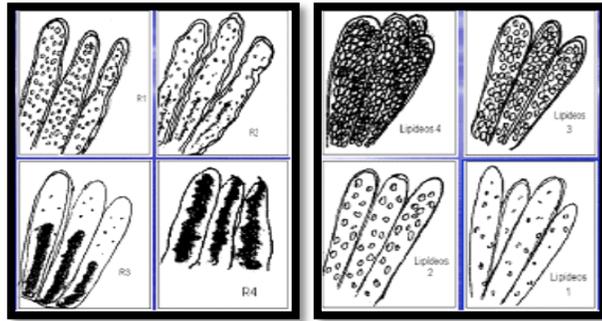
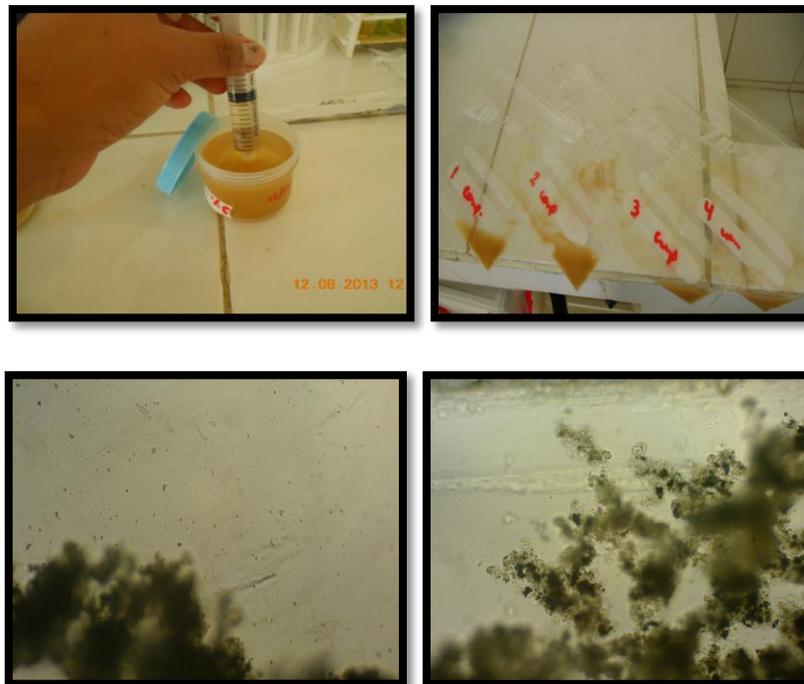


Figura 17 Deformaciones y Cantidad de lípidos de los túbulos del hepatopáncreas.

Fuente: Manual de procedimientos biocentinela s.a. (2011).



Figuran 18 Floc y Microorganismos que lo componen.



Figura 19 Identificación y cuantificación del plancton.

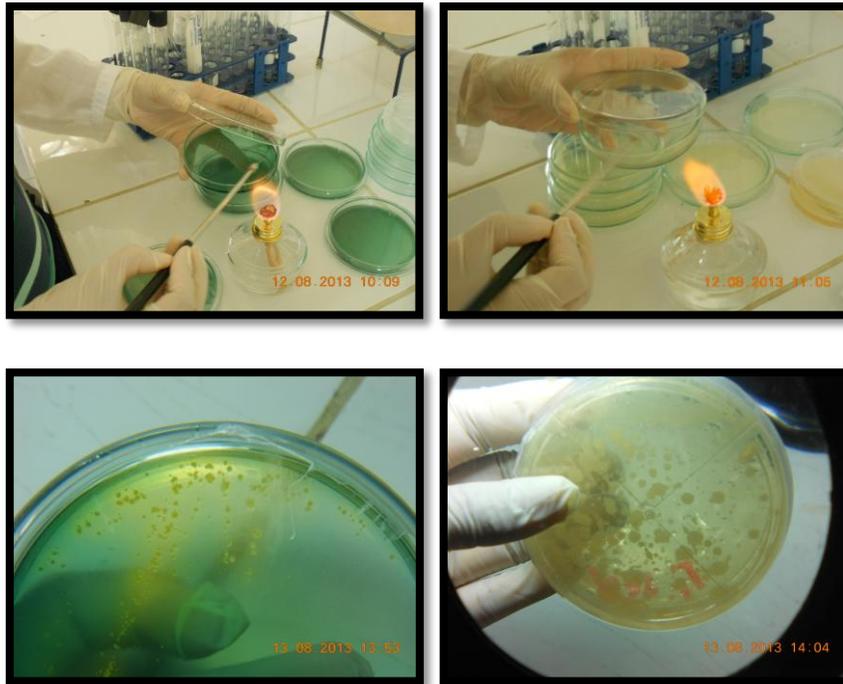


Figura 20 Técnica de siembra de agar TCBS y TSA.



Figura 21 Prueba de estrés de salinidad.