



**ESPE**

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS

INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**ADAPTACIÓN DE LA TILAPIA HÍBRIDA**

***Oreochromis* sp EN UN SISTEMA “BIOFLOC”, CON LA INCLUSIÓN DE  
NUCLEÓTIDOS EN DIETAS BALANCEADAS, EN EL SUBTRÓPICO  
ECUATORIANO, PARROQUIA NANEGAL.**

**AUTORES: CONTRERAS GUERRA, DAVID ALEJANDRO  
NARANJO LÓPEZ, ADRIANA PAULINA**

**DIRECTOR: ORTIZ TIRADO, JUAN CRISTÓBAL, PhD**

**SANGOLQUÍ**

**2020**



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación, ***“ADAPTACIÓN DE LA TILAPIA HÍBRIDA Oreochromis sp EN UN SISTEMA “BIOFLOC”, CON LA INCLUSIÓN DE NUCLEÓTIDOS EN DIETAS BALANCEADAS, EN EL SUBTRÓPICO ECUATORIANO, PARROQUIA NANEGAL”***, fue realizado por los señores ***Contreras Guerra David Alejandro y Naranjo López Adriana Paulina***, el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

**Sangolquí, 16 de Enero de 2020**

*Juan Ortíz*

.....  
Ing. ORTIZ TIRADO JUAN CRITÓBAL PhD

C.C. *1709998163*  
.....



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA**  
**CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA**

**AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD**

Nosotros, *Contreras Guerra David Alejandro y Naranjo López Adriana Paulina*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación "**ADAPTACIÓN DE LA TILAPIA HÍBRIDA *Oreochromis* sp EN UN SISTEMA "BIOFLOC", CON LA INCLUSIÓN DE NUCLEÓTIDOS EN DIETAS BALANCEADAS, EN EL SUBTRÓPICO ECUATORIANO, PARROQUIA NANEGAL**", es de nuestra autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz:

**Sangolquí, 16 de enero de 2020**

.....  
Contreras Guerra David Alejandro  
C.C. 172569948-0

.....  
Naranjo López Adriana Paulina  
C.C. 172231567-6



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

*Nosotros, Contreras Guerra David Alejandro y Naranjo López Adriana Paulina, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación **ADAPTACIÓN DE LA TILAPIA HÍBRIDA Oreochromis sp EN UN SISTEMA “BIOFLOC”, CON LA INCLUSIÓN DE NUCLEÓTIDOS EN DIETAS BALANCEADAS, EN EL SUBTRÓPICO ECUATORIANO, PARROQUIA NANEGAL**”, en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra responsabilidad.*

Sangolquí, 16 de Enero de 2020

.....  
Contreras Guerra David Alejandro  
C.C. 172569948-0

.....  
Naranjo López Adriana Paulina  
C.C. 172231567-6

## DEDICATORIA

*A Dios:*

Por darnos vida, amor, salud y sabiduría a lo largo de toda nuestra vida universitaria.

*A nuestros padres:*

Por su amor, trabajo y sacrificio ¡Gracias infinitas! por mostrarnos el camino hacia la superación, no hubiéramos alcanzado una meta más en nuestra vida profesional y convertirnos en lo que somos. Es un orgullo y privilegio ser su hijo/a.

*A nuestros hermanos/as:*

Por su apoyo, confianza y ejemplo, ¡Gracias! por ser nuestros amigos de la vida.

*A nuestros amigos:*

Por las risas, aventuras, y más, pero sobre todo por permitirnos aprender más de la vida a su lado.

Esto es posible gracias a ustedes

David Alejandro C.  
Adriana Naranjo L.

## AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por la vida de mis padres y la mía, por su bendición de cada día que me permite disfrutar al lado de las personas que más amo.

A mi papi Pablo y a mi mami Paulina por ser los principales promotores de mis sueños, gracias por creer en mí, gracias por cada consejo que me supieron guiar durante toda esta etapa de mi vida. A mis hermanas Monse, Pamela y Daniela que siempre estuvieron conmigo y darme su ejemplo. ¡Gracias familia por ser parte de este triunfo!

A mi mejor amigo, David (Babuchi) por ser la mejor persona que Dios puso en mi camino, te agradezco por tu respeto, amor y amistad.

Adriana Naranjo L.

Gracias a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme guiado a lo largo de la carrera, por fortalecerme y no dejarme caer. A mis padres Pablo y Mónica que nunca dieron su brazo a torcer que siempre me pidieron y exigieron lo mejor de mí, gracias por guiarme, educarme y castigarme sin ustedes no sería quien soy el día de hoy. A mis hermanos Andrés, María Renee, Mónica, Pablo y Juan quienes me alentaron, reclamaron y apoyaron incondicionalmente gracias por todo los amo.

A mi brazo derecho y amiga, Adrianita sin ti no lo hubiera logrado, gracias por tu insistencia, el aguantarme, el apoyo, las discusiones, cariño, risas y viajes. Siempre serás parte de mi vida.

David Contreras G.

En primer lugar, agradecemos a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria-IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE por acogernos y ser parte de ella; así como también a los diferentes docentes que brindaron su conocimiento otorgado. Al Dr. Juan Ortiz por habernos brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad, conocimiento científico y brindarnos su apoyo.

Agradecemos al Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Pichincha, especialmente al Ing. Miguel Anasi y a su equipo de trabajo Juan, Suco, Daniel, Carlos; quienes hicieron que el desarrollo de la investigación fuera un éxito y sobre todo por su compañía, nos llevamos unos gratos recuerdos.

Y para finalizar, a nuestros amigos Byron, Pepe, Mona, Max, Alex, Victor, Ricardo, Kevin y Elizabeth; quienes compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas y haber hecho más ameno el transcurso de la carrera.

David Contreras G. & Adriana Naranjo L.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

### CARÁTULA

CERTIFICACIÓN .....	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD .....	ii
AUTORIZACIÓN .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	vi
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT .....	xv

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

1.1	Antecedentes .....	1
1.2	Justificación .....	2
1.3	Planteamiento del problema.....	4
1.3.1	El problema .....	4
1.3.2	Efectos.....	5
1.3.3	Causas .....	5
1.4	Objetivos .....	6
1.4.1	Objetivo general .....	6
1.4.2	Objetivos Específicos.....	6
1.5	Hipótesis.....	6

## CAPÍTULO II

### MARCO REFERENCIAL

2.1	Acuicultura de la tilapia .....	7
2.2	Sistema cero recambios tipo biofloc .....	7
2.2.1	Relación Carbono -Nitrógeno .....	8
2.2.2	Biofloc en acuicultura .....	9
2.2.3	Compuestos nitrogenados en la acuicultura.....	9
2.2.4	Procesos de nitrificación .....	10
2.2.5	Parámetros y condiciones de calidad del agua para el sistema Biofloc .....	11
2.3	Meta- genómica.....	12
2.3.1	Usos de la genómica en acuicultura .....	13
2.3.2	Análisis metagenómico .....	14
2.3.3	Aplicaciones.....	14

2.4	Cultivo de tilapia .....	15
2.4.1	Aspectos generales .....	15
2.4.2	Taxonomía .....	15
2.4.3	Parámetros físicos-químicos .....	16
2.4.4	Ciclo de producción .....	20
2.4.5	Nutrición y Alimentación.....	21
2.4.6	Energía .....	22
2.4.7	Lípidos y ácidos grasos esenciales.....	23
2.4.8	Vitaminas y minerales.....	23
2.4.9	Importancia del alimento natural .....	24
2.5	Nucleótidos .....	25
2.5.1	Beneficios.....	26
2.6	Estrés en peces. ....	27
2.6.1	Tipos de Estrés .....	28
2.6.2	Reacción animal ante el estrés .....	30
2.6.3	Estrés y la activación del sistema de respuesta .....	31
2.6.4	Respuestas primaria, secundaria y terciaria al estrés .....	33

### **CAPÍTULO III METODOLOGÍA**

3.1	Ubicación del lugar de investigación .....	34
3.1.1	Ubicación política .....	34
3.1.2	Ubicación geográfica .....	34
3.1.3	Ubicación Ambiental .....	35
3.2	Material Experimental.....	35
3.3	Métodos.....	35
3.3.1	Instalación del ensayo .....	35
3.3.2	Formación del macrocosmos .....	36
3.3.3	Siembra de organismos .....	37
3.3.4	Mantenimiento del sistema biofloc .....	37
3.3.5	Alimentación .....	39
3.3.6	Factores .....	40
3.3.7	Tratamientos.....	42
3.3.8	Tipo de diseño experimental .....	42
3.3.9	Características de las unidades experimentales .....	42
3.4	VARIABLES A MEDIR .....	42
3.4.1	VARIABLES DE CALIDAD DE AGUA.....	42
3.4.2	Análisis Metagenómico.....	44
3.4.3	VARIABLES MORFOMÉTRICAS .....	47
3.4.4	Parámetros productivos.....	47
3.4.5	Biofloc.....	48
3.5	Análisis estadístico.....	49
3.6	Análisis de la información .....	49



## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1	Resultados .....	51
4.1.1	Variables métricas .....	51
4.1.2	Parámetros productivos .....	55
4.1.3	Variables de calidad de agua .....	62
4.1.4	Análisis de microbiota .....	64
4.1.5	Sistema Biofloc .....	71
4.2	Discusión .....	75
4.2.1	Parámetros métricos y productivos .....	75
4.2.2	Factores bióticos y abióticos (temperatura, pH, TSS, OD, amonio y nitrito, cantidad y tamaño de biofloc, microorganismos) .....	78
4.2.3	Análisis de Microbiota .....	83

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1	Conclusiones .....	85
5.2	Recomendaciones .....	86
5.3	Bibliografía .....	87

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	<i>Rangos óptimos de oxígeno disuelto .....</i>	17
<b>Tabla 2</b>	<i>Clasificación de los estanques según la concentración de sólidos disueltos.....</i>	18
<b>Tabla 3</b>	<i>Parámetros óptimos de calidad de agua para el cultivo de tilapia .....</i>	19
<b>Tabla 4</b>	<i>Niveles de proteína bruta recomendados para un crecimiento máximo en tilapia.....</i>	21
<b>Tabla 5</b>	<i>Requerimientos de aminoácidos esenciales (% de proteína bruta) .....</i>	21
<b>Tabla 6</b>	<i>Relación óptima proteína: energía .....</i>	23
<b>Tabla 7</b>	<i>Requerimientos de nutrientes esenciales según su estadio .....</i>	23
<b>Tabla 8</b>	<i>Nivel de suplementos vitamínicos para tilapias en la dieta .....</i>	24
<b>Tabla 9</b>	<i>Nivel de suplementos de minerales para tilapias en la dieta.....</i>	24
<b>Tabla 10</b>	<i>Composición nutritiva de organismos del alimento natural para tilapias .....</i>	25
<b>Tabla 11</b>	<i>Parámetros de mantenimiento de biofloc.....</i>	39
<b>Tabla 12</b>	<i>Ración alimenticia para Tilapia .....</i>	40
<b>Tabla 13</b>	<i>Tratamientos planteados para el desarrollo del proyecto de investigación .....</i>	42
<b>Tabla 14</b>	<i>Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana .....</i>	44
<b>Tabla 15</b>	<i>Análisis de varianza para un diseño en parcela subdividida (2x3x10) con 3 repeticiones .....</i>	49
<b>Tabla 16</b>	<i>Promedio <math>\pm</math> error estándar del peso corporal y largo total de Oreochromis sp para dos sistemas de producción y alimentación con tres niveles de nucleótidos durante 90 días .....</i>	51

<b>Tabla 17</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar del largo parcial y ancho total de <i>Oreochromis sp</i> para dos sistemas de producción y alimentación con tres niveles de nucleótidos en 90 días .....</i>	53
<b>Tabla 18</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar del largo parcial y ancho total de <i>Oreochromis sp</i> para 90 días.....</i>	53
<b>Tabla 19</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar de la ganancia de peso de <i>Oreochromis sp</i> para dos sistemas de producción alimentados con tres niveles de nucleótidos en dietas balanceadas durante 90 días .....</i>	55
<b>Tabla 20</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar del índice de condición corporal de <i>Oreochromis sp</i> durante 90 días .....</i>	56
<b>Tabla 21</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar de la tasa de crecimiento específico y eficiencia alimenticia de <i>Oreochromis sp</i> alimentadas con tres niveles de nucleótidos en dietas balanceadas durante 90 días .....</i>	57
<b>Tabla 22</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar de la tasa de crecimiento específico y eficiencia alimenticia de <i>Oreochromis sp</i> para dos sistemas de producción .....</i>	58
<b>Tabla 23</b> <i>Promedio <math>\pm</math> desviación estándar del factor de conversión alimenticia de <i>Oreochromis sp</i> para dos sistemas de producción en 90 días .....</i>	60
<b>Tabla 24</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar de la productividad de <i>Oreochromis sp</i> para dos sistemas de producción .....</i>	61
<b>Tabla 25</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar de los parámetros físicos de la calidad de agua según el sistema de producción.....</i>	62
<b>Tabla 26</b> <i>Géneros bacterianos prevalentes del agua de los dos sistemas productivos identificados en medios selectivos.....</i>	63

**Tabla 27** *Diversidad a nivel taxonómico de cada tratamiento* ..... 65

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Ciclo de cultivo Tilapia .....	20
<b>Figura 2</b>	Distribución de la energía consumida del pez .....	22
<b>Figura 3</b>	Estructura de los nucleótidos .....	26
<b>Figura 4</b>	Esquema de la relación existente en la respuesta a un estímulo estresante .....	33
<b>Figura 5</b>	Ubicación del centro Piscícola Nanegal .....	34
<b>Figura 6</b>	Disposición del experimento en campo .....	36
<b>Figura 7</b>	Promedio $\pm$ error estándar del peso corporal (g) a través del tiempo .....	54
<b>Figura 8</b>	Promedio $\pm$ error estándar del largo total (cm) a través del tiempo .....	54
<b>Figura 9</b>	Promedio $\pm$ error estándar de la ganancia de peso (g/día) a través del tiempo ..	56
<b>Figura 10</b>	Promedio $\pm$ error estándar de la tasa de crecimiento específico (g/día) a través del tiempo .....	59
<b>Figura 11</b>	Promedio $\pm$ error estándar de la eficiencia alimenticia (%) a través del tiempo	59
<b>Figura 12</b>	Promedio $\pm$ error estándar del factor de conversión alimenticia a través del tiempo .....	61
<b>Figura 13</b>	Comportamiento de los compuestos nitrogenados en el Sistema Biofloc .....	63
<b>Figura 14</b>	Curvas de refracción para la diversidad microbiana: a)Todas las muestras secuenciadas. Efecto para las muestras biológicas en b)sistemas de producción, c)Inclusión de nucleotidos.....	65
<b>Figura 15</b>	Grafico de barras de la muestra ambiental de los sistemas productivos.....	66

<b>Figura 16</b> Diagramas de Venn mostrando OTUs únicos y compartidos de los dos sistemas de producción en: a) Contenido intestinal, b) Porción intestinal. Los traslapes representan los OTUs obtenidos .....	68
<b>Figura 17</b> Grafico de barras de la composición del contenido y porción intestinal con y sin inclusión de nucleótidos.....	70
<b>Figura 18</b> Composición de las especies del género Bacillus en las muestras secuenciadas	71
<b>Figura 19</b> Cantidad de bioflóculos en el Sistema Biofloc a través del tiempo .....	72
<b>Figura 20</b> Tamaño de bioflóculos del sistema biofloc a través del tiempo .....	72
<b>Figura 21</b> Etapas de maduración de los bioflóculos.....	73
<b>Figura 22</b> Microorganismos presentes en el sistema Biofloc.....	74

## RESUMEN

En los primeros esfuerzos de acuicultura extensiva se pretendió utilizar los recursos que cada productor a pequeña y mediana escala tuviera en su parcela, aprovechando las condiciones hídricas y los hábitos alimenticios de la tilapia. Se realizó la adaptación de *Oreochromis* sp en un sistema “biofloc”, con inclusión de nucleótidos en dietas balanceadas, en el subtrópico ecuatoriano, parroquia Nanegal por 90 días, el objetivo fue evaluar el efecto de dos niveles de nucleótidos para el crecimiento de *tilapia* (0,30 y 0,60g) bajo un Sistemas Biofloc (SB) y Tradicional (ST). Se empleó 18 unidades experimentales (jaulas de  $1m^3$ ), se distribuyó al azar 1080 peces con peso inicial de  $0,66 \pm 0,03g$ , se tomó variables métricas y productivas cada 10 días. Los parámetros ambientales temperatura ( $T^\circ$ ), potencial hidrógeno (pH) y total de sólidos suspendidos (SST) fueron medidos diariamente, el oxígeno disponible (OD) no presentó diferencias significativas. En la calidad del agua se evaluó los niveles de  $NO_4$  y  $NO_3$ ; el SB obtuvo valores 1,07 y 0,48ppm respectivamente y la fracción tóxica de amoníaco fue 0,001ppm, indicando que no son tóxicos para los peces. Las tilapias en SB + 0,60g reportaron diferencias significativas en parámetros morfométricos en comparación al resto de tratamientos ( $p < 0,05$ ); también presentaron mayor ganancia de peso ( $0,61 \pm 0,02g$ ), TCE %g/día ( $4,89 \pm 0,23$ ) y EA ( $74,75\% \pm 2,83$ ) que los peces del ST. La implementación del Sistema Biofloc es viable para la producción de tilapia ya que se logró alcanzar una productividad de  $297,45 \pm 101,09g/m^3$  con inclusión vs  $183,58 \pm 57,30g/m^3$  sin inclusión de nucleótidos.

### Palabras clave:

- **BIOFLOC**
- **NUCLEÓTIDOS**
- **PRODUCCIÓN DE TILAPIA HÍBRIDA**
- **CONGLOMERADO BACTERIANO**
- **AMONIACO**

## ABSTRACT

Within the first trials of extensive aquaculture, it was intended to use the resources that each small and medium-scale producer would have in their land, taking advantage of the hydric conditions and the eating habits of tilapia. The adaptation of *Oreochromis* sp was performed in a “Biofloc” system, with the inclusion of nucleotides in balanced diets, in the Ecuadorian subtropic, Nanegal parish, for a 90-day period. The main objective of this research project was to evaluate the effect of two different levels of nucleotides (0,30-0,60g) on a balanced diet for the growth of *Oreochromis* sp under Biofloc (BS) growth systems and traditional growth systems (TS) 18 experimental units (cages with a volume of  $1m^3$ ) were used, 1080 fish with an initial average weight of  $0,66 \pm 0,03g$  were randomly distributed, metric and productive variables were determined every 10 days. The environmental parameters: Temperature ( $T^\circ$ ), hydrogen potential (pH) and total suspended solids (SST) were measured daily. However, the oxygen availability did not present significant differences, as it stayed constant. As to water quality, levels of  $NO_4$  and  $NO_3$  were evaluated. On the Biofloc system, the values were 1,07 and 0,48 ppm respectively and the toxic ammonium concentration was 0,001 ppm, showing that N levels are not toxic to fish. The tilapias under Biofloc system fed with 0,60g nucleotide concentration diet reported relevant differences in corporal weight, total length and total width in comparison to the other treatments ( $p < 0,05$ ); also, they presented higher weight gain ( $0,61 \pm 0,02g$ ), specific growth rate per day ( $4,89 \pm 0,23$ ) and food efficiency ( $74,75 \pm 2,83$ ) than the fish in the traditional growth system. A Biofloc growth system is feasible for tilapia raising because it achieved a productivity of  $297,45 \pm 101,09 g/m^3$  vs  $183,58 \pm 57,30 g/m^3$  without the nucleotides inclusion.

### Keywords:

- **BIOFLOC**
- **NUCLEOTIDES**
- **HYBRID TILAPIA RAISING**
- **BACTERIAL CONGLOMERATE**
- **AMMONIA**



## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

#### **1.1 Antecedentes**

La industria acuícola en el Ecuador se ha diversificado, siendo el cultivo de tilapia una de las actividades acuícolas que presenta un crecimiento constante. Según (FAO, 2018) la producción mundial de tilapia alcanzó 3.6 millones de toneladas en el 2014.

En los primeros esfuerzos de acuicultura extensiva se pretendió utilizar los recursos que cada productor a pequeña y mediana escala tuviera en su parcela, aprovechando las condiciones hídricas que presenta el país y los hábitos alimenticios de la tilapia, lo cual la convierte en un pez poco selectivo en cuanto a los alimentos que ingiere (Incopesca, 2018).

La tilapia es un pez de origen africano, de interés comercial por su rápido crecimiento, su carne blanca de alta calidad, su tolerancia a altas densidades de carga animal y resistencia a enfermedades. En contraste con estas virtudes, si las tilapias escapan de sus lugares de crianza y entran a ríos o lagunas tienden a desplazar y eliminar a otras especies nativas, dado principalmente por sus características alimenticias. Además, el manejo de las aguas residuales de sus estanques puede ser fuente de contaminación a los cuerpos de agua naturales (Maeda, 2017).

Al adaptar un sistema de producción acuícola de cero recambios de agua “Biofloc”, que se caracteriza porque ofrece la posibilidad de incrementar la densidad de cultivo, obteniendo mayor productividad por unidad de área, disminuyendo la utilización de agua y tierra con lo que se reduce los costos de producción, convirtiéndose en una tecnología innovadora y de vanguardia para la producción acuícola super-intensiva. Los “bio-flóculos”, están constituidos por partículas orgánicas en suspensión o adheridas a las paredes de los estanques de producción. Dichas

partículas engloban el material orgánico en el que se desarrollan microalgas, organismos microscópicos (protozoarios, rotíferos, hongos, oligoquetos) y una gran diversidad de bacterias heterotróficas, que sirven de fuente de alimento vivo para los organismos.

Según (Ortiz, 2015) la producción eficiente de especies en sistemas de cultivos intensivos y semi intensivos requiere del uso de alimentos artificiales como fuente primaria y de suplementación de nutrientes. Estas dietas deben estar controladas y principalmente equilibradas de nutrientes como proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales, que satisfacen los requerimientos nutricionales esenciales para el adecuado crecimiento de estos peces. El uso de nucleótidos en la acuicultura tiene por objetivo estimular el sistema inmune, permitiendo mejorar la resistencia de los animales a infecciones producidas por el ataque de bacterias, hongos, virus y parásitos. De esta manera se reduce las tasas de morbilidad y mortalidad de manera importante. Mediante la inclusión de nucleótidos en dietas balanceadas en peces, se puede incrementar la carga animal, intensificando el cultivo y a la vez controlar enfermedades por la reducción de estrés en confinamiento (Barrera & Barros, 2018).

Esta investigación evaluó la implementación de un sistema de cero recambios de agua “Biofloc”, para optimizar la producción de tilapia híbrida en la parroquia de Nanegal, con la inclusión de nucleótidos en dietas balanceadas.

## **1.2 Justificación**

Ecuador tiene riqueza hidrográfica, en donde productores a pequeña y mediana escala aprovechan las fuentes de agua para una producción acuícola tradicional, que conlleva a utilizar tecnología básica de producción, y a la vez generan un impacto negativo a los recursos como agua y tierra. Bajo estas circunstancias el Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Pichincha – GADPP, brinda procesos productivos que contribuyen a la seguridad alimentaria de

la población colindante, con el propósito de mitigar problemas nutricionales mediante el consumo de carne de pescado como la tilapia, bajo un sistema acuícola tradicional.

En términos per cápita, se prevé que el consumo mundial de pescado alcance los 21,5 kg en 2030, frente a los 20,3 kg en 2016. El consumo per cápita aumentará en todas las regiones excepto en África. Las mayores tasas de crecimiento se proyectan para América Latina, superiores al 18 %. (FAO, OPS, WFT, & UNICEF, 2018). Sin embargo, según (Ortiz, 2015) en Ecuador este indicador no supera el consumo de los 5 kg/persona/año.

Por otro lado, la actividad acuícola demanda mayores extensiones de terreno, uso de grandes cantidades de agua que conlleva a la contaminación de hábitats naturales por el incremento de nitrógeno y fosforo, presencia de enfermedades, mayor uso de insumos y antibióticos, incremento de las condiciones de estrés en las biomasas de producción entre otros aspectos a considerar (Hernandez, Londoño, & Hernandez, 2019). Por esta razón la industria acuícola está obligada a buscar alternativas que favorezcan la productividad de los sistemas y a su vez sean amigables con el medio ambiente. El desarrollo del sistema “Biofloc” (conjunto de bioflóculos formados por microalgas, organismos microscópicos diversos y bacterias heterotróficas), permite aumentar el valor nutricional de la especie de interés, respetando el uso de los recursos naturales agua y tierra como un beneficio económico (Palma, Ordoñez, & Ordoñez, 2018).

Los procesos alimenticios en acuicultura conllevan un costo operativo alto en el orden del 60%. En este sentido, los esfuerzos tecnológicos se enfocan en el desarrollo de alternativas para sustituir el uso de ingredientes tradicionales (harina y aceite de pescado) provenientes de pesca de captura cuya oferta no puede seguir aumentando. Entre las tecnologías que se consideran más prometedoras están la proteína de alga (de gran valor alimenticio y que se produce en sistemas cerrados escalables y predecibles que minimizan el uso de tierra y agua), proteínas generadas por

bacterias (en tanques de fermentación, alimentadas con metano y otros productos derivados industriales como etanol y carbón residual), y proteínas obtenidas a partir de insectos (que se alimentan con residuos de comida o subproductos de cereales, requiriendo una baja inversión de capital) (ESPAE-ESPOL, 2018).

Considerando las expectativas de continuo crecimiento para la industria acuícola a nivel global, es importante la canalización de mayores inversiones orientadas a desarrollar nuevas y seguras tecnologías, por consiguiente, la presente investigación realizó un proyecto a pequeña escala en la parroquia Nanegal en el que se usó un sistema "Biofloc", con el manejo de diferentes dosis de inmunoestimulantes denominados nucleótidos, que en conjunto se redujo costos operativos, que genero mayor rentabilidad y productividad en el sistema.

### **1.3 Planteamiento del problema**

#### **1.3.1 El problema**

El crecimiento futuro de la producción de especies acuáticas se espera provenga de la acuicultura, para responder a la demanda alimenticia. Sin embargo, existen múltiples desafíos que pueden afectar los resultados de esta actividad, entre los cuales se encuentran: disponibilidad de agua y tierra, sostenibilidad medioambiental y problemas de enfermedades en las especies de interés. Es importante notar que las grandes caídas en los niveles de producción del país han estado relacionadas a problemas de mercado y en mayor proporción, a problemas sanitarios.

Es necesario que los profesionales de la acuicultura en todos sus niveles tengan claro la importancia de la innovación tecnológica aplicada, para generar mayor valor agregado y enfrentar los riesgos y estabilidad de la seguridad alimentaria de la región con una acuicultura a pequeña y mediana escala de forma técnica. En este sentido la mayoría de productores locales no ejecutan acciones tecnológicas de forma sostenible y sustentable con especies exóticas como la tilapia

híbrida. En seguridad alimentaria, los esfuerzos tecnológicos se enfocan en el desarrollo de alternativas para sustituir el uso de ingredientes tradicionales (harina y aceite de pescado) provenientes de pesca de captura cuya oferta no puede seguir aumentando (ESPAE-ESPOL, 2018).

Para responder al presente desafío se requiere de la implementación de estrategias tecnológicas sustentables de producción, y evitar conflictos con los distintos usuarios o ecosistemas sensibles, para asegurar una acuicultura sostenible, que busque un crecimiento social, económico y ambiental con continuidad en el tiempo.

### **1.3.2 Efectos**

- Sistemas acuícolas con deficientes estrategias tecnológicas generando un impacto ambiental negativo al recurso agua y suelo.
- Adaptar la especie a otros medios de crianza, genera un problema de estrés en la población.
- Algunas prácticas de acuicultura como la manipulación, que incluye persecución, captura y exposición de peces al aire y hacinamiento, conlleva una serie de efectos fisiológicos y endocrinológicos pudiendo afectar el desempeño del pez en el tiempo.

### **1.3.3 Causas**

- Precio de insumos como equipos, energía y mano de obra que han mostrado una creciente evolución en el tiempo.
- Precio del alimento balanceado que impacta los costos de producción y rentabilidad de la operación dulce acuícola de la región.
- Sistemas de explotación acuícola vulnerables a la presencia de enfermedades y patógenos en los estanques.

- Las prácticas culturales inducen estrés en confinamiento provocando un pobre crecimiento y aumento de la incidencia de enfermedades en los peces.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general**

Evaluar el desempeño productivo de tilapia híbrida en etapa de crecimiento bajo un sistema de cero recambios de agua “Biofloc” y la inclusión de nucleótidos en dietas balanceadas en la parroquia Nanegal, subtrópico ecuatoriano.

### **1.4.2 Objetivos Específicos**

- Evaluar el comportamiento productivo de tilapia híbrida en un sistema “Biofloc” y bajo la acción de dietas balanceadas complementadas con diferentes niveles de nucleótidos.
- Evaluar los parámetros físicos, químicos, micro-biológicos en un sistema “Biofloc” en el monocultivo de tilapia.
- Desarrollar un manual técnico-operativo para el manejo del sistema biofloc para tilapias en el subtrópico ecuatoriano.

## **1.5 Hipótesis**

H0: La inclusión de nucleótidos en dietas balanceadas para tilapia híbrida en etapa de crecimiento bajo un sistema “Biofloc” no incrementa los rendimientos productivos en el subtrópico ecuatoriano, parroquia de Nanegal en relación a un sistema tradicional.

H1: La inclusión de nucleótidos en dietas balanceadas para tilapia híbrida en etapa de crecimiento bajo un sistema “Biofloc” incrementa los rendimientos productivos en el subtrópico ecuatoriano, parroquia de Nanegal en relación a un sistema tradicional.

## CAPÍTULO II

### MARCO REFERENCIAL

#### 2.1 Acuicultura de la tilapia

Los principales países productores de Tilapia en orden de producción son: Brasil, Colombia, México, Honduras, Ecuador, Costa Rica y Guatemala. La introducción de la tilapia en Latinoamérica se da en los años 80's, para el cual se hace uso de la tecnología Israelí con el uso de la acuicultura y piscicultura como método de producción. En Costa Rica y Colombia se registra el cultivo de Tilapia Nilótica con una producción intensiva en piscicultura industrial (Keong & Romano, 2012).

De una tetra-hibridación (*O.mossambicus* x *O. niloticus* y *O.nossambicus* x *O.aureas*) se obtuvo la tilapia roja, que es de interés comercial. Los datos muestran que Ecuador se dedica a la producción exclusiva de Tilapia Roja y exporta filete fresco. La introducción de la tilapia en Ecuador se da en los años 80's, en 1993, se registra la primera exportación de tilapia congelada en 1995, se intensifica y en 1999 la industria de tilapia tiene un gran impulso en la exportación de filete fresco con Estados Unidos como mercado meta (Guamán, 2017).

#### 2.2 Sistema cero recambios tipo biofloc

La tecnología biofloc, se basa en aprovechar los residuos alimenticios, materia orgánica y compuestos inorgánicos tóxicos (los cuales conllevan al deterioro de la calidad del agua y al poco aprovechamiento del alimento natural), a través de los microorganismos presentes en los medios acuáticos, dando condiciones de dominancia a comunidades bacterianas quimio-foto autótrofos y heterótrofas, resolviendo así sustancialmente los problemas de saturación de nutrientes a partir de su reciclaje (Avnimelech Y. , et al., 2015).

Las explicaciones dadas a las interacciones de ese pequeño cosmos en ambientes acuáticos naturales, dio inicio a investigaciones que buscaban contrarrestar la acumulación de compuestos nitrogenados especialmente amonio y nitritos en los sistemas de producción de especies acuáticas, así nació el concepto biofloc, como el de una comunidad constituida de microorganismos asociados entre sí en un sustrato suspendido o flotante que responde a una dinámica de malla trófica que se inicia en heterótrofos capaces de fijar carbono desde las sustancias y partículas orgánicas en el agua y cuya densidad se sitúa entre 10 y 1000 millones de células microbianas / cm<sup>3</sup> (Arias & Collazos, 2014).

### **2.2.1 Relación Carbono -Nitrógeno**

Los sistemas biofloc en acuicultura se caracterizan por el mínimo o cero recambios de agua ya que el nitrógeno amoniacal total (NAT) es principalmente controlado por bacterias heterotróficas las cuales asimilan este compuesto en proteína microbiana. Para que esto se lleve a cabo es necesario que en el medio se presente una alta proporción carbono/nitrógeno (C/N) en un rango de 20 a 1, lo cual se consigue adicionando fuentes externas de carbono a los sistemas o disminuyendo la proteína del alimento, resultando este último en un beneficio económico (Chávez, Vega, & Toledo, 2016).

La dinámica del sistema de cultivo Biofloc se basa en el adecuado manejo de la relación C: N para la remoción y asimilación de nutrientes en el agua a través de bacterias heterótrofas, las cuales estimulan la producción de proteína microbiana, fenómeno influenciado por la interacción de los parámetros físicos y químicos del agua, que a su vez influyen en los organismos presentes en el sistema. (Martínez, Martínez, López, & Enríquez, 2014).



### 2.2.2 Biofloc en acuicultura

La tecnología Biofloc concede varias ventajas a la acuicultura y mencionan resultados favorables en el crecimiento y la supervivencia de Tilapia. Según (Zapata, et al., 2017) menciona que el potencial de la alimentación que se brinda en el cultivo de alevines de *Oreochromis niloticus* durante 58 días de cultivo con peso promedio individual de  $1.55 \pm 0.01$ g, alcanzando rendimientos finales promedios de  $15.50 \pm 0.81$ g, mediante el consumo exclusivo de proteína microbiana por día.

Otros autores (Lima, Rocha, Nogueira, & Souza, 2017), mencionan que la utilización de este sistema, mejora la conversión alimenticia es decir la retención proteica de organismos cultivados, incrementa la actividad enzimática, actividad hematológica y respuesta inmunológica en peces.

### 2.2.3 Compuestos nitrogenados en la acuicultura

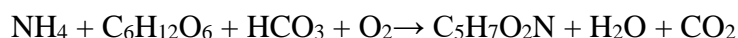
El Nitrógeno puede estar presente en el ambiente acuático en forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), amonio ionizado ( $\text{NH}_4^+$ ), amoniaco no ionizado ( $\text{NH}_3$ ), óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), óxido nítrico ( $\text{NO}$ ), nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ), nitrógeno orgánico disuelto (péptidos, purinas, aminas, aminoácidos) y como nitrógeno orgánico particulado (Vargas & Hernández, 2003). De todas estas formas de nitrógeno, los nitratos y el amonio son los más importantes para los ecosistemas acuáticos, por cuanto constituyen la fuente principal de N biodisponible para la generación de la cadena trófica, siendo que el amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) y el nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) son tóxicos para los peces y se convierten en un factor limitante para el crecimiento y sobrevivencia de organismo acuáticos, cuando se pretende aumentar la biomasa del sistema y disminuir los riesgos es esencial transformar amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) y nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) en nitrógeno no tóxico (Vargas & Hernández, 2003).

El metabolismo del alimento ingerido termina con la formación de amoníaco ionizado y no ionizado que es excretado principalmente por las branquias al agua. La suma de amonio  $\text{NH}_4^+$  y amoníaco  $\text{NH}_3$  se le denomina Nitrógeno Amoniacal Total (NAT). En cultivos de peces la forma no ionizada  $\text{NH}_3$  es altamente tóxica y la concentración letal varía entre especies en un rango de 1-2 mg/L, agudizándose cuando la concentración de oxígeno es baja (Avnimelech Y. , 2009). El aumento del amonio no ionizado depende también del aumento del pH, temperatura y salinidad, en presencia de microorganismos foto-autótrofos, las concentraciones de  $\text{NH}_3$  aumentan en horas de la tarde cuando el pH y temperatura están en niveles altos y el  $\text{CO}_2$  es mínimo (Ebeling & Timmons, 2010).

#### 2.2.4 Procesos de nitrificación

La tecnología Biofloc busca maximizar el potencial de los procesos microbianos ya que muchas bacterias son capaces de degradar diferentes formas de nitrógeno en donde se incluyen las más nocivas para peces (Avnimelech P. D.-S., 2015). Tres grupos de microbiota actúan en la remoción de compuestos nitrogenados del agua, los cuales son: asimilación por *algas*, oxidación por *bacterias quimio autótrofas* y asimilación por *bacterias heterotróficas*; a las cuales, si se les suma otros organismos como zooplancton, hongos y nemátodos, todos abundantes por capacidad reproductiva que poseen, los cuales en conjunto consiguen el control casi absoluto de los desechos de nitrógeno (Arias & Collazos, 2014).

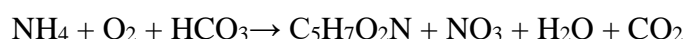
Las bacterias heterotróficas presentan la siguiente reacción metabólica que incluyen la descomposición del amonio para transformarlo en biomasa bacteriana:



Dicho en otros términos por cada gramo de NAT producido en un tanque de cultivo, es necesario añadir aproximadamente  $\approx 20$  gramos de hidratos de carbono (C: N de 20:1).

Una consecuencia directa de la adición de carbohidratos para lograr estas proporciones es el aumento de la demanda de oxígeno disuelto, atribuido a las reacciones químicas propias de las bacterias heterótrofas (Schveitzer, Arantes, Fóes, & Do-Espírito, 2013).

Para las bacterias quimio-autotróficas, las reacciones de metabolismo incluyen la descomposición de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) en nitrito ( $\text{NO}_2$ ) y después en nitrato ( $\text{NO}_3$ ), para finalmente a través de reacciones anaeróbicas por proceso de de-nitrificación, en nitrógeno atmosférico ( $\text{N}_2$ ):



El análisis de las dos reacciones anteriores muestra que las bacterias quimio-autotróficas nitrificantes presentes en el biofloc requieren menos carbohidratos para la transformación y remoción de nitrógeno, con la consecuente disminución en la demanda de oxígeno (Avnimelech P. D.-S., 2015) en este sentido la relación Carbono : Nitrógeno - C:N sería de 15 - 10: 1, siendo que las dos vías (bacterias autótrofas y heterótrofas) para la eliminación de nitrógeno son diferentes en términos de la utilización del sustrato, la biomasa bacteriana que generan y los subproductos que producen, sin embargo debido a la menor velocidad de reproducción de las bacterias nitrificantes, se necesita la presencia de bacterias heterótrofas especialmente en los primeros días de cultivo para asegurar el secuestro y la reducción de amoníaco producido. Las bacterias quimio-autotróficas necesitan alrededor de 30 días para su establecimiento en el tanque de cultivo (Ebeling & Timmoms, 2010).

### 2.2.5 Parámetros y condiciones de calidad del agua para el sistema Biofloc

Los parámetros básicos de medición en cultivos biofloc son: oxígeno, temperatura, pH, alcalinidad, amonio y sólidos sedimentables. Según (Avnimelech Y. , 2009):

- **Oxígeno:** Es conveniente mantenerlo disuelto cercano a 6 mg / L con saturaciones mayores del 60 %, siendo que existe una relación inversa entre el consumo de oxígeno y el peso

corporal, así como un efecto positivo de la temperatura del agua sobre la tasa metabólica para tilapia.

- **pH y la alcalinidad:** Normalmente permanecen estables en el agua con rangos de 7 – 9 y > 50 mg de CaCO<sub>3</sub> /L respectivamente, existiendo una relación directa entre los procesos de nitrificación y la alcalinidad e inversos en relación con el pH. En este sentido cuando el pH es alto promueve toxicidad por amonio no ionizado; sin embargo, una alcalinidad entre 40 – 100 mg/L de CaCO<sub>3</sub> genera un efecto buffer que disminuye la oscilación del pH.
- **Temperatura del agua:** Afecta al pH teniendo correlaciones positivas, es decir que mayor temperatura mayor pH y mayor amonio tóxico (Emerson, Russo, Lund., & Thurston, 1975).
- **Sólidos Suspendidos:** Es el principal indicador de calidad del sistema. Diferentes tipos de sólidos existen en un tanque con biofloc con los cuales se puede administrar el cultivo son los sólidos sedimentables (SS), los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV). Siendo 100 ml/L de SS en cultivo de tilapia un indicativo de buena calidad del biofloc.

La interacción entre estos parámetros es lo que hace que la calidad de agua se mantenga o no en los intervalos de confort y su entendimiento permite saber que sucede en el tanque de cultivo (Collazos & Arias, 2016).

### 2.3 Meta- genómica

La meta-genómica, es parte de la genómica que estudia el ADN global de una comunidad de microorganismos. Se trata de una práctica que está tomando gran popularidad en la última década como herramienta científica prometedora, aunque todavía está subutilizada en acuicultura, considerando el vasto universo de aplicaciones potenciales de esta disciplina. El estudio de las comunidades microbianas en acuicultura está todavía en una fase inicial de desarrollo, sin

embargo, un conocimiento de estas comunidades puede servir para desarrollar herramientas en los sistemas de recirculación, o la novedosa tecnología de cultivo biofloc, por servir como centinelas o biomarcadores del estado de la producción (Vargas & Martínez, 2015).

El estudio de la diversidad microbiana debe analizarse en cualquier actividad agropecuaria, ya que su conocimiento permite el uso y la manipulación de estas comunidades y puede traer consigo una mejora en las condiciones de cultivo y, por lo tanto, en la producción. La metagenómica se divide en dos principales áreas de investigación (Vazquez, Vargas, & Martínez, 2017):

- **La secuenciación de un solo gen o generando ampliaciones de una muestra ambiental:**

Es el estudio de genes particulares que son amplificados utilizando la PCR e iniciadores “universales”, para posteriormente secuenciar, comparar y analizar dicha secuencia para determinar ortología o paralogía con otras secuencias que están presentes en las bases de datos.

- **La fragmentación aleatoria o secuenciación escopeta:**

Es la secuenciación del ADN aislado de una muestra en particular, en la que analiza una gran cantidad de genes de todos los organismos de cualquier ambiente, sin embargo, en la práctica esto no ocurre debido a que aún no existe la tecnología que pueda secuenciar el genoma completo de los miles de especies de bacterias al mismo tiempo.

### **2.3.1 Usos de la genómica en acuicultura**

Los microorganismos son esenciales para todos los ecosistemas terrestres ya que mantienen los ciclos biogeoquímicos, descomponen la materia orgánica, fijan el nitrógeno y degradan componentes tóxicos. Sin embargo, solo se conoce una pequeña parte de ellos, ya que

se estima que alrededor de 99 % de todas las bacterias de la comunidad microbiana no se han podido identificar debido a que es imposible cultivarlas (Wooley, 2010).

La biodiversidad total y las probables funciones de los microorganismos incultivables son muy difíciles de probar sin utilizar las técnicas genómicas, como la metagenómica y la genómica funcional (Riesenfeld, 2004).

### **2.3.2 Análisis metagenómico**

Para llevar a cabo los análisis de biodiversidad microbiana, es esencial el diseño de iniciadores que hibriden con regiones conservadas y que permitan amplificar segmentos moleculares que proporcionen información taxonómica relevante para identificar los organismos presentes en la muestra. Las regiones variantes V1 a V9 de los genes 16s y 18s ADN<sub>r</sub>, han sido usadas exitosamente para la identificación taxonómica (Lane, 1981).

Por medio de los análisis metagenómicos es posible explicar la vasta diversidad de microorganismos presentes en diversos tipos de granjas de cultivo, en especies costeras, de agua dulce, en levaduras, peces, moluscos, crustáceos, hongos y otros (Wegley, 2007).

### **2.3.3 Aplicaciones**

- La metagenómica supera en cobertura y eficiencia a otros métodos, como la PCR y los microarreglos, en casos de detección de genomas múltiples de organismos no identificados.
- La metagenómica disminuye la identificación errónea de especies patógenas no comunes, porque se pueden aplicar tratamientos inadecuados.
- La metagenómica representa una herramienta para la detección y seguimiento de las comunidades de microorganismos en los sistemas de producción agropecuaria que usan probióticos.

- La metagenómica comprende las sinergias y antagonismos entre los microorganismos e identifica las moléculas bioactivas que producen para mejorar los procesos de digestión o protección.
- Construir y amplificar bibliotecas metagenómicas que busquen nuevos genes de biodegradación que puedan clonarse dentro de bacterias incubadas en medios con elevadas concentraciones tóxicas y usarse con fines médicos o estrategias económicas.

(Vazquez, Vargas, & Martínez, 2017)

## **2.4 Cultivo de tilapia**

### **2.4.1 Aspectos generales**

El cultivo de esta especie se favorece porque se adapta y resiste los ambientes que no son favorables para otras. Estos peces son de hábitos alimenticios herbívoro-omnívoros que son más eficientes en la utilización de los carbohidratos que los carnívoros, porque son la fuente de energía dietética más barata. Las tilapias tienen diferente capacidad para utilizar los carbohidratos, por las variaciones específicas relacionadas con la edad del animal y por el tipo y origen de los azúcares. Al mismo tiempo, las tilapias tienen eficiente utilización, digestión y asimilación de los almidones. Poseen buena actividad lipogénica, que indica una óptima capacidad para utilizar metabólicamente los almidones (Cabrera, Millán, & Rengel, 2001).

### **2.4.2 Taxonomía**

La tilapia posee la siguiente clasificación taxonómica:

- Reino: Animalia
- Filo: Chordata
- Nombre común: tilapia

- Clase: Osteichthyes
- Orden: Perciformes
- Familia: Cichlidae
- Subfamilia: Pseudocrenilabrinae
- Género: *Oreochromis*
- Especie: *O. aureus*, *O. hornorum*, *O. niloticus*, *O. mossambica*

### 2.4.3 Parámetros físicos-químicos

Es necesario comprender los principales parámetros de calidad del agua y sus interrelaciones, que afectan el crecimiento y la salud de los peces y determinan el fracaso o el éxito de las prácticas culturales en general; por lo que, para lograr una buena producción, es necesario mantener las condiciones físico-químicas del agua dentro de los límites de tolerancia para la especie a cultivar (García & Calvario, 2008):

- **Temperatura:** Factor principal debido a que afecta a la fisiología, crecimiento, reproducción y metabolismo de la tilapia. La tilapia siendo termófilo puede tolerar amplios rangos de temperaturas, el rango normal oscila entre 20 a 35 °C, además en estudios se evaluaron 3 rangos de temperaturas 24, 28 y 32°C dando como resultado que las tilapias que se manejaron con 28 °C presentaron el doble de crecimiento con respecto a 24 y 32°C, teniendo como resultado que la temperatura óptima para el desarrollo y maximización del crecimiento animal es de 28°C; mientras que los rangos de temperatura tolerable corresponde a 7-10°C como mínima temperatura y 40-42°C como máxima. Además, cuando las temperaturas descienden bajo los 20°C las tilapias empiezan a reducir su alimentación, mientras que a 16°C detienen su alimentación.



- **Salinidad:** La tolerancia a la salinidad depende de la especie, tamaño, tiempo de adaptación, factores ambientales y ubicación geográfica, los rangos para un desarrollo normal oscilando entre 17% hasta 37%, tomando en cuenta que puede afectar en la reproducción.
- **Oxígeno disuelto (OD):** Limitante medio ambiental que afectan a la alimentación, crecimiento y metabolismo de los peces, se conoce que la tilapia es capaz de sobrevivir a niveles bajos de oxígeno disuelto (1,0 mg/l), pero esto provoca estrés, siendo la principal causa de origen de infecciones patológicas.

**Tabla 1***Rangos óptimos de oxígeno disuelto*

Oxígeno (ppm)	Efectos
0-0.3	Los peces pequeños sobreviven en cortos períodos
0.3-2.0	Letal a exposiciones prolongadas
3.0-4.0	Los peces sobreviven, pero crecen lentamente
>4.5	Rango deseable para el crecimiento del pez

Fuente: (García &amp; Calvario, 2008)

- **pH:** El rango óptimo de pH para la crianza de tilapia oscila entre 7 y 8, además se determina que el pH ideal para juveniles oscila entre 5 a 8, pero sí pueden resistir valores alcalinos de 11.
- **Turbidez del agua:** Se deben mantener 30 centímetros de visibilidad (lectura del Disco Secchi). Los valores máximos de turbidez corresponden a 1.26 NTU y mínimos de 0 NTU, relacionándose los mismos a las horas de alimentación, limpieza (sifoneo) de acuarios, es decir a operaciones de manejo del sistema.
- **Fotoperíodo:** Es un factor artificial clave para regular los ritmos diarios de actividad de los peces, promoviendo el crecimiento de los peces, las tasas metabólicas, la pigmentación del cuerpo, la maduración sexual y la reproducción. Estudios recomiendan que fotoperíodos

largos (24 y 18 h) la tilapia adquiere un rendimiento significativo que en períodos cortos (12 o 6 h).

- **Amoníaco ( $NH_3$ ):** El amoníaco es tóxico para la tilapia y, por lo tanto, la concentración debe mantenerse por debajo de 0.1 mg/L.
- **Nitritos ( $NO_2$ ):** Parámetro de vital importancia por su gran toxicidad, se genera en el proceso de transformación del amoníaco a nitratos. La toxicidad de los nitritos depende de la cantidad de cloruros, temperatura y concentración de oxígeno en el agua. Es necesario mantener la concentración por debajo de 0.1 ppm, haciendo recambios fuertes, limitando la alimentación y evitando concentraciones altas de amonio en el agua.
- **Alcalinidad y dureza total:** Los rangos para piscicultura están aproximadamente entre 30 y 200 mg/l de  $CaCO_3$
- **Dióxido de carbono ( $CO_2$ ):** Es un producto de la actividad biológica y metabólica, su concentración depende de la fotosíntesis. Debe mantenerse en un nivel inferior a 20 ppm, porque cuando sobrepasa este valor se presenta letargia e inapetencia.
- **Sólidos Suspendidos Totales (SST):** Aumentan la turbidez en el agua, disminuyendo el oxígeno disuelto en ella. Los sólidos se deben controlar mediante sistemas de desarenadores y filtros.

**Tabla 2**

*Clasificación de los estanques según la concentración de sólidos disueltos*

<b>Estanque</b>	<b>Concentración</b>
Limpios	>25 mg/l
Intermedios	25-100 mg/l
Lodosos	<100mg/l

Fuente: (García & Calvario, 2008)

- **Fosfatos:** Son productos resultantes de la actividad biológica de los peces y sobrealimentación con alimentos balanceados. La concentración alta, causa aumento en la población de fitoplancton; y éstas a su vez, provocan bajas de oxígeno por la noche. Su valor debe fluctuar entre 0.6 y 1.5 ppm.
- **Cloruros y sulfatos:** Al igual que los fosfatos, se derivan de la actividad metabólica de los peces y del aporte de los suelos y aguas subterráneas, utilizadas en granjas piscícolas. El límite superior para cada uno de estos compuestos, son 10 ppm y 18 ppm respectivamente.

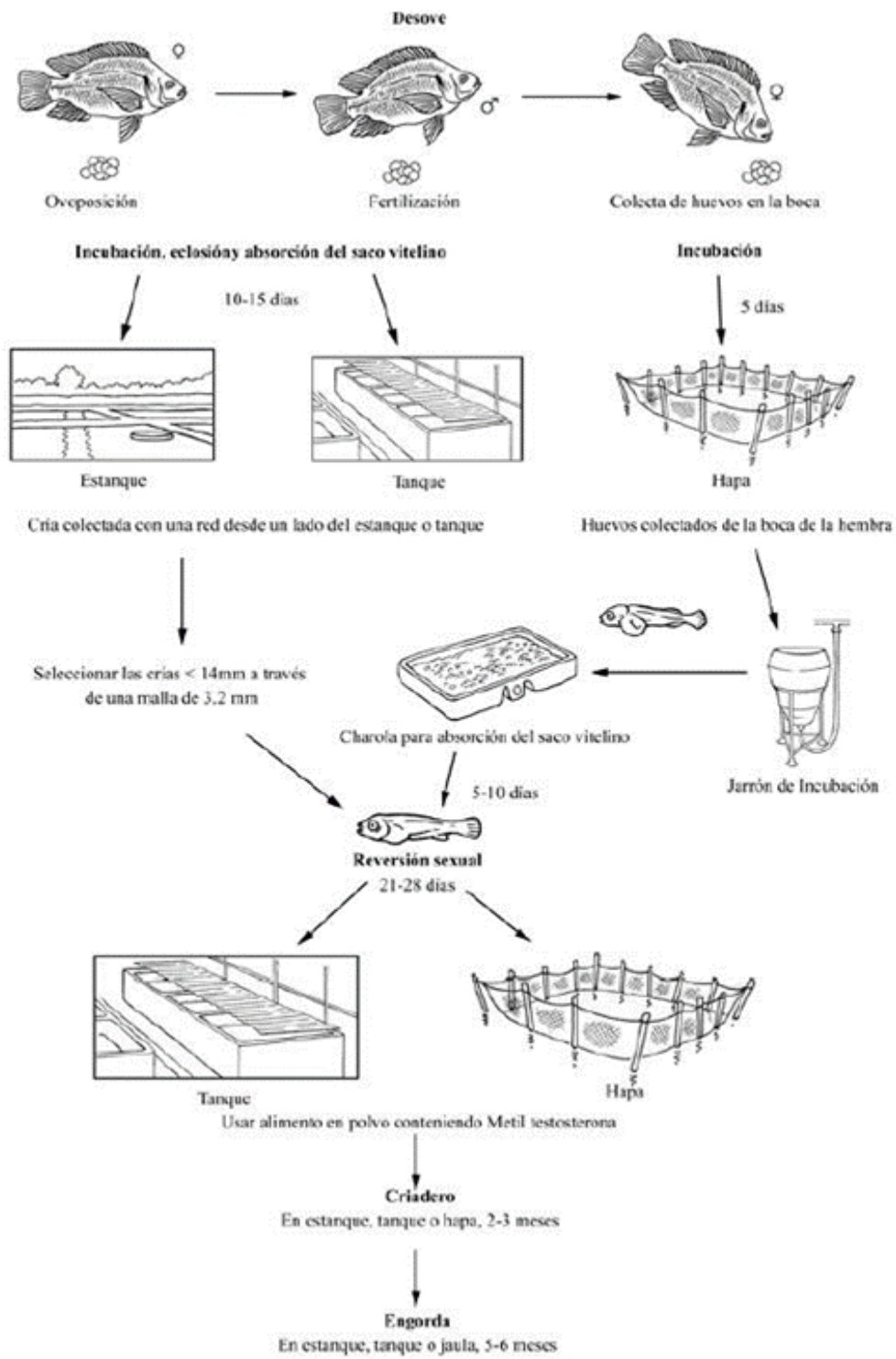
**Tabla 3**

*Parámetros óptimos de calidad de agua para el cultivo de tilapia*

<b>Parámetro</b>	<b>Tilapia</b>
Oxígeno disuelto (mg/L)	<4.5
Salinidad (%)	17-36%
pH	4-11
Alcalinidad total (mg/L)	100-200
Dureza total (mg/L)	20-350
Turbidez (mg/L)	13000
Dióxido de carbono (mg/L)	>20
Amonio total (mg/L)	>0.1
Nitrito (mg/L)	>0.1
Nitrato (mg/L)	>10
Fosfatos (mg/L)	0.6-1.5
Temperatura	25-30

Fuente: (Tsang & Quintanilla, 2008)

## 2.4.4 Ciclo de producción



**Figura 1** Ciclo de cultivo Tilapia  
Fuente: (Rakocy, 2005)

### 2.4.5 Nutrición y Alimentación

Los peces obtienen cantidades suficientes de nutrientes esenciales a través de alimentos disponibles u ofrecidos, para garantizar su normal metabolismo, un crecimiento adecuado, la salud y reproducción. Necesitan 44 nutrientes esenciales que incluyen al agua, aminoácidos esenciales, energía, ácidos grasos esenciales, vitaminas, minerales y carotenoides.

**Tabla 4**

*Niveles de proteína bruta recomendados para un crecimiento máximo en tilapia*

<b>Rango de pesos (g)</b>	<b>Nivel óptimo de proteínas (%)</b>
Larvas 1	40-45
1 a 10	40-35
10 a 50	35
50 a 250	30
250 a talla comercial	30 a 25

Fuente: (Llanes, Toledo, & Vega, 2006)

**Tabla 5**

*Requerimientos de aminoácidos esenciales (% de proteína bruta)*

<b>Aminoácidos</b>	<b>%</b>
Lisina	5.12
Arginina	4.20
Histidina	1.72
Treonina	3.75
Valina	2.80
Leucina	3.39
Isoleucina	3.11
Metionina	2.68
Fenilalanina	3.75
Triptófano	1.00
Metionina + Cistina	3.21
Fenilalanina + Tirosina	5.54

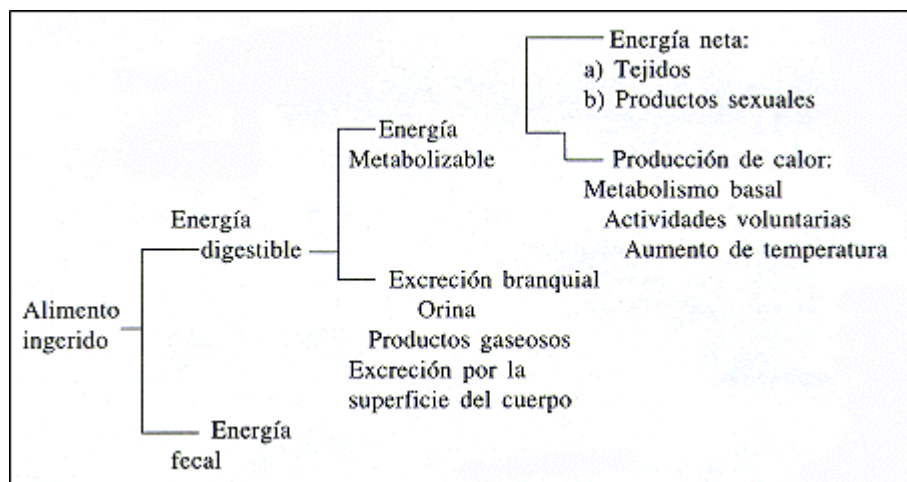
Fuente: (Llanes, Toledo, & Vega, 2006)

Hay que considerar que el nivel de proteína en la dieta que garantiza el máximo crecimiento se relaciona con el contenido energético de la dieta, estado fisiológico del pez (talla, peso y madurez), factores ambientales (temperatura del agua, salinidad, oxígeno disuelto), calidad de la

proteína (nivel y disponibilidad de aminoácidos esenciales), tasa de alimentación y el alimento natural.

### 2.4.6 Energía

La energía se obtiene del metabolismo oxidativo de las proteínas, lípidos y carbohidratos. Las tilapias aprovechan bien las grasas y carbohidratos como fuentes de energía y propician que las proteínas de la dieta se utilicen para el crecimiento. Un balance proteína bruta/energía digestible (PB/ED) en la dieta es fundamental para lograr un crecimiento máximo, eficiencia alimentaria y una composición química (grasa) del filete adecuada.



**Figura 2** Distribución de la energía consumida del pez  
Fuente: (IIAP & GEF/PNUD, 1999)

La energía ingerida a través de los alimentos puede seguir diferentes rutas metabólicas en el animal, existiendo varios lugares donde la energía perdida puede ser recuperada. Las pérdidas de energía ocurren en las heces, orina y excreciones branquiales y como calor, el pez necesita minimizar esas pérdidas para obtener un óptimo desempeño (National Research Council, 1983).

Como la tilapia no necesita regular la temperatura corporal, los requerimientos de energía de mantenimiento son bajos, la energía diaria de mantenimiento para peces se puede calcular dependiendo del peso metabólico (Torres & Hurtado, 2012).

**Tabla 6***Relación óptima proteína: energía*

<b>Proteína digestible (%)</b>	<b>Energía digestible (kcal/g)</b>	<b>Relación PB/ED (mg/kcal)</b>	<b>Respuesta</b>
30	3,30	85,49	Ganancia de peso
32	3,00	90,90	
38,6	3,80	101,57	

PB= proteína bruta, ED=energía digestible. Fuente: (Reinoso, 2016)

#### 2.4.7 Lípidos y ácidos grasos esenciales

Los lípidos en el alimento para tilapias tienen dos funciones principales: sustrato para la obtención de energía metabólica y como fuente de ácidos grasos esenciales. Aportan hasta 2,25 veces más energía que la proteína y tienen un efecto ahorrador de proteína dietética.

Los ácidos grasos esenciales son los que no se sintetizan por el organismo y precisan de un ácido graso o cualquier otro precursor en la dieta o el alimento natural disponible en el acuario.

**Tabla 7***Requerimientos de nutrientes esenciales según su estadio*

<b>Nutriente esencial</b>	<b>Estadio</b>	<b>Requerimiento (%)</b>
Lípido	Alevín	5-8
Lípidos totales	Adulto	8-10
$\Omega$ -6	Todos los estadios	0.5-1
$\Omega$ -3	Todos los estadios	0.5-1

Fuente: (Reinoso, 2016)

#### 2.4.8 Vitaminas y minerales

Las vitaminas y minerales desempeñan un papel importante en la formación de tejido óseo y sanguíneo, el crecimiento muscular y en procesos fisiológicos y metabólicos esenciales que aseguran un crecimiento, salud y reproducción adecuada.

**Tabla 8***Nivel de suplementos vitamínicos para tilapias en la dieta*

<b>Vitaminas</b>	<b>Nivel en la dieta</b>
A (UI/kg)	500
D (UI/kg)	200
E (mg/kg)	10
K (mg/kg)	0-1
B1 (mg/kg)	0.1
B2 (mg/kg)	3.5
B12 (mg/kg)	0.01
Niacina (mg/kg)	6-10
Ácido fólico (mg/kg)	0-0.5
Ácido pantoténico (mg/kg)	3-5
Biotina (mg/kg)	0-0.5
Vitamina C (mg/kg)	50
Inositol (mg/kg)	300
Colina (mg/kg)	400

Fuente: (Llanes, Toledo, &amp; Vega, 2006)

**Tabla 9***Nivel de suplementos de minerales para tilapias en la dieta*

<b>Minerales</b>	<b>Nivel en la dieta</b>
Calcio (%)	0
Fósforo (g/kg)	5-10
Magnesio (g/kg)	0.5-0.7
Potasio (g/kg)	2.0
Zinc (mg/kg)	20.0
Hierro (mg/kg)	30.0
Cobre (mg/kg)	5.0
Cromo (mg/kg)	1.0
Selenio (mg/kg)	0.1

Fuente: (Llanes, Toledo, &amp; Vega, 2006)

#### **2.4.9 Importancia del alimento natural**

Los alimentos que consumen los peces en su medio natural están compuestos por numerosos organismos vegetales, micro crustáceos, larvas de insectos, vermes, moluscos, anfibios y peces. Siendo ricos en energía y proteína de alta calidad y sirven como fuente de minerales y vitaminas.



**Tabla 10***Composición nutritiva de organismos del alimento natural para tilapias*

<b>Alimento natural</b>	<b>MS (%)</b>	<b>PB (%)</b>	<b>EE (%)</b>	<b>CN (%)</b>	<b>ELN (%)</b>	<b>EB (kcal/kg)</b>
Fitoplancton	14 a 22	18 a 31	4 a 10	27 a 47	21 a 52	2200 a 3700
Rotíferos	11	64	20	6	10	4866
Cladóceros	10	57	19	8	16	1800
Copépodos	10	52	26	7	15	5445
Quironomidos	19	59	5	6	30	5034

MS= materia Seca, PB= Proteína Bruta, EE= Extracto Etéreo, CN= cenizas, ELN= Extractos libre de nitrógeno, EB= Energía Bruta

Fuente: (Llanes, Toledo, & Vega, 2006)

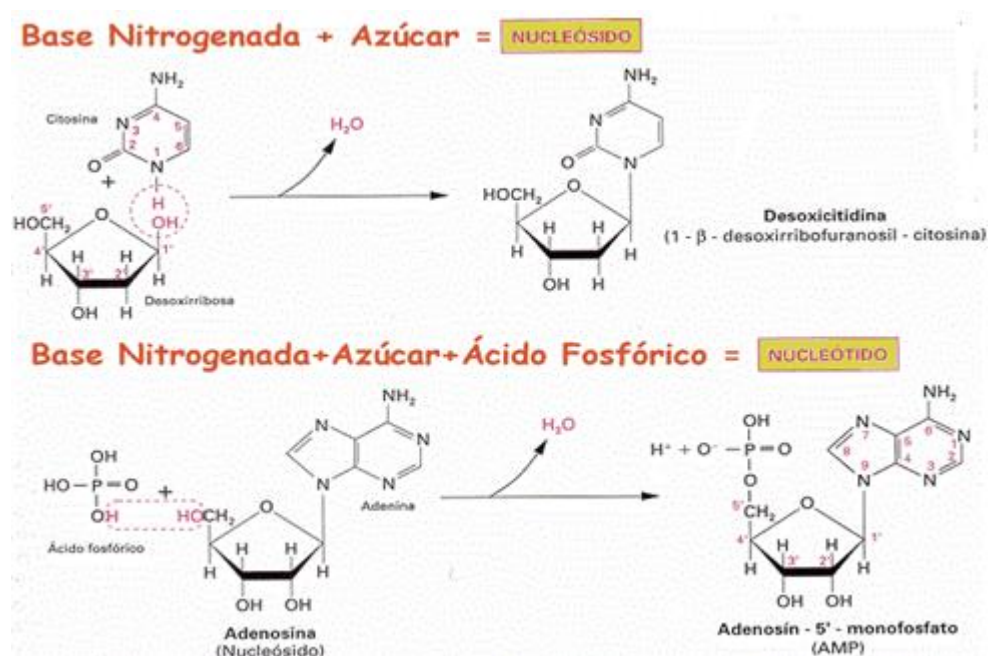
## 2.5 Nucleótidos

Los nucleótidos son ésteres de fosfato de nucleósidos que contienen un azúcar unido a través de un enlace glicosídico con bases nitrogenadas (purina o pirimidina). Las principales bases de purina incluyen: adenina, guanina, hipoxantina y xantina y forman nucleótidos a través de un enlace glicosídico entre el nitrógeno N-8 y el carbono C-1V de la pentosa, mientras que el hidroxilo C-5V se esterifica con el grupo fosforilos. Las principales bases de pirimidina incluyen: uracilo, timina y citosina y forman nucleótidos de manera similar (Rudolph, 1994)

Se ha demostrado que los nucleótidos en los animales no tienen relación únicamente con el sistema inmunológico, sino que también tienen efecto positivo en el tracto gastrointestinal, potencian el efecto de vacunas, mejoran la capacidad osmoreguladora en peces, incluyendo la codificación y desciframiento de información genética, actúan como mediadores del metabolismo energético, señales celulares y forman parte de coenzimas, efectores alostéricos y agonistas celulares (Siegel, 2011).

AQUATESHRIMP es un producto de la empresa Alltech destinado para el cultivo de camarón, el cual contiene una premezcla con minerales, los componentes del producto incluyen: ácido docosahexaenoico-DHA (5,264 %), Nucleótidos (1,667 %), Glucomananos (1,4 %), Hierro

(4695 ppm), Zinc (4395ppm), Manganeso (2010 ppm), Cobre (1660 ppm), Selenio (30 ppm) y Cromo (20 ppm). Físicamente es un polvo color marrón integrado por: Harina de algas (*Schizochytrium* sp.), Extracto de levadura, Levadura hidrolizada, Levadura de cerveza seca, Proteinato de Hierro, Proteinato de Zinc, Cromolevadura, Proteinato de cobre, Seleniolevadura, Proteinato de manganeso, Aluminosilicato de sodio y calcio hidratado, Harina de algas (*Chlorella vulgaris*), Ácido ascórbico y Producto seco de la fermentación de *Aspergillus* sp (Alltech, 2014).



**Figura 3** Estructura de los nucleótidos

Fuente: (Galvez, 2009)

### 2.5.1 Beneficios

Los nucleótidos están involucrados en los procesos celulares y desempeñan un papel importante en las funciones estructurales, metabólicas, energéticas y reguladoras, además funcionan como intermediarios en la síntesis de glucógeno y glicoproteínas, son también

intermediarios en la síntesis de fosfolípidos. Son componentes estructurales de varias coenzimas que son cruciales para muchas vías metabólicas (Rudolph, 1994).

Los estudios sobre nucleótidos en dietas para peces han demostrado que pueden mejorar el crecimiento en las primeras etapas de desarrollo, mejora la calidad de las larvas a través de la fortificación de los reproductores, altera la estructura intestinal, aumenta la tolerancia al estrés y modula las respuestas inmunes innatas y adaptativas a su vez presentan mayor resistencia a infecciones virales, bacterianas y parasitarias (Peng & Delbert, 2006).

Según (Xu L. , et al., 2015), en su estudio realizado sobre los efectos de nucleótidos en dietas en el crecimiento de tilapia híbrida juvenil, se determinó que la dosis óptima de suplementos de nucleótidos fue de 0,60g/100g de balanceado. Beneficiando al crecimiento intestinal y eficiencia del pez. La unidad experimental tuvo un peso inicial de 8 g posterior a 8 semanas obtuvo un peso de 332,62g.

## **2.6 Estrés en peces**

Término que se aplica a una situación en la que una persona o un animal están sometidos a un cambio que puede resultar en un peligro real para su integridad. Se lo puede asociar como un evento que la mayoría de los animales experimentan y que induce una serie de respuestas que involucran los tres sistemas reguladores, neuronal, endocrino e inmune (Tort, 2011).

Según (Auro de Ocampo & Ocampo, 1999) la producción acuícola la cual maneja grandes poblaciones de organismos en espacios limitados, ha traído consigo la necesidad de estudiar el efecto que estas densidades provocan en peces, ya que las tasas de crecimiento, los índices de fertilidad, la incidencia y frecuencia de enfermedades, están determinadas por la respuesta de los organismos al síndrome general de adaptación “estrés” el cual se define como la suma de todas

las respuestas fisiológicas que ocurren cuando los organismos intentan establecer o mantener la homeostasis.

Según (Wendelaar, 1997), el estrés se define como una condición en la que el equilibrio dinámico de los organismos animales denominado homeostasis se ve amenazado o alterado como resultado de las acciones de los estímulos intrínsecos o extrínsecos, comúnmente definidos como factores estresantes.

Según (Auro de Ocampo & Ocampo, 1999), el estrés está dado por componentes directos e indirectos, los efectos directos en un organismo son metabólicos y afectan los componentes funcionales de las células, tales como las enzimas y las membranas o modifican funciones como la respiración, circulación, respuesta inmune, osmorregulación y regulación hormonal. Los efectos indirectos, pueden considerarse como modificaciones de actividades conductuales tales como la alimentación, reproducción y la capacidad de competencia.

### **2.6.1 Tipos de Estrés**

- **Estrés Social = altas densidades de carga**

El tamaño de la población, así como la jerarquía de los peces en una población son causa de competencia, en espacio como de alimento y consecuentemente de estrés. La aparente sobrepoblación, que se presenta en explotaciones intensivas de peces, es un factor de estrés que puede controlarse al alimentarse a los peces artificialmente, la competencia de alimento no se presenta si cada uno de los organismos recibe su ración, y se evita la agresividad. Sin embargo, algunos peces como la tilapia son muy agresivos y territoriales, esto no es una respuesta a la sobrepoblación, sino una característica innata de los cíclidos en general (Auro de Ocampo & Ocampo, 1999).

- **Estrés Físico = cambios en la temperatura, O<sub>2</sub> y pH**

Estos factores estresantes se derivan de lesiones, manipulaciones, manejo, etc., los cuales se producen mediante interacciones naturales o prácticas del cultivo. En este caso, la intensidad y el tiempo son componentes clave para evitar que el animal llegue a un punto de no retorno el cual involucra pérdidas en las ganancias económicas (Tort, 2011).

- **Estrés Químico = contaminación exógena o endógena**

La contaminación del hábitat está dada bien por residuos animales, vertidos procedentes de cultivos o industrias generando un estrés químico que afecta directamente la salud de los animales. Los compuestos químicos y metales pesados que no forman parte de la composición de los organismos constituyen una amplia gama de contaminantes exógenos que son los causantes de la pérdida de homeostasis en los animales. Los contaminantes químicos producen cambios bioquímicos y estructurales que generan una patología. Por ejemplo, el amoníaco es tóxico para peces siendo su forma no ionizada (NH<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>OH) la que mayor toxicidad produce. Se ha identificado hiperplasia del epitelio branquial, como cambios degenerativos y hemorragia en el hígado, son las consecuencias de una exposición a un estrés crónico por amoníaco (Abdalla & Gad, 2011).

- **Estrés Traumático**

Las lesiones son fácilmente observables macroscópicamente, muchas constituyen la vía de entrada a infecciones bacterianas, virales o micóticas que son causa de pérdidas en la economía. Es de gran importancia estudiar aquellas cuya causa predisponente son heridas, ya que es uno de los efectos de la convivencia en grandes densidades. Los medios más comunes de identificar o medir los efectos directos del estrés en el pez son los métodos bioquímicos moleculares, los bioquímicos hormonales, los métodos fisiológicos computarizados no invasivos y los

histopatológicos en jaulas o corrales y de la utilización de las artes de pesca (Auro de Ocampo & Ocampo, 1999).

- **Estrés Nutricional**

La relación entre los peces y sus alimentos se ve afectada por una interacción entre una serie de factores que incluyen la temperatura, la luz, la salinidad, el tamaño de los peces, la actividad y el comportamiento, el apetito, el régimen de alimentación, el hambre, el estrés y el tipo de alimento. La mayoría de veces este tipo de estrés ocurre en sistemas de cría intensiva, donde un almacenamiento de los piensos da lugar a problemas de degradación o pérdida de nutrientes o de vitaminas en el alimento, lo que conduce a patologías específicas. Los componentes nutricionales y la energía bruta disponibles para el mantenimiento, el crecimiento, la locomoción y la reproducción celular están determinados por la cantidad de alimentos consumidos, la fracción que se asimila y el contenido de nutrientes de los alimentos (Talbot, 1985).

### 2.6.2 Reacción animal ante el estrés

Según (Seyle, 1963), el Síndrome de Adaptación General “estrés”, establece que la respuesta de organismo ante una situación de estrés se da en tres etapas.

- **Fase de reacción de alarma inicial:** La primera reacción del animal, es intentar huir o enfrentar el peligro, lo cual activa un amplio rango de funciones fisiológicas:
  - a) Activación motora, ritmo cardiaco, flujo sanguíneo hacia los órganos más activos: cerebro corazón y músculos esqueléticos.
  - b) Flujo sanguíneo hacia las branquias y estímulo de la captación de oxígeno
  - c) Aumento de la tasa metabólica basal e intermedia

- **Fase de resistencia:** Continúa el estrés, el animal trata de adaptarse a la nueva situación y los niveles de las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) volverían a valores normales y se libera el cortisol
- **Fase de agotamiento:** Se mantiene la situación de estrés y los niveles de cortisol durante un largo período y la activación del metabolismo interfieren con los demás procesos fisiológicos y pueden llegar a ser letales para el animal.

### 2.6.3 Estrés y la activación del sistema de respuesta

La respuesta de los peces al estrés es mediante un sistema coordinado de ejes que relaciona los sistemas nervioso y endocrino. Estos sistemas van a actuar para desencadenar la respuesta fisiológica (Santos, 2017):

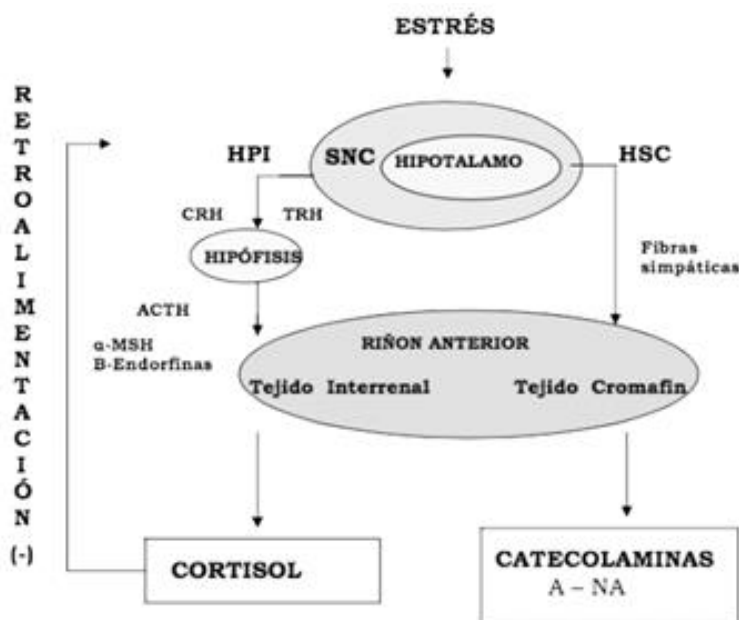
- **Ejes de respuesta:** En los peces, el conjunto de órganos que responden ante el estrés es denominado eje hipotálamo-pituitario-interrenal (HPI). Esto es debido a que poseen un conjunto difuso de células interrenales embutidas en la porción anterior del riñón, por otro lado, también existe un segundo eje fisiológico implicado en el conjunto de la respuesta a los factores estresantes: el eje Hipotálamo Simpático Cromafín (HSC) (Santos, 2017).
- **Eje HSC:** La síntesis y liberación de las catecolaminas (CA), (adrenalina (A), noradrenalina (NA)) en la circulación, está estimulada por las fibras colinérgicas del sistema simpático y un leve aumento tardío de la liberación de las hormonas glucocorticoides (GC). En los peces teleosteos el principal origen de las CA circulantes son las células cromafines dispuestas en la pared de la vena cardinal posterior en la región del riñón anterior y activa varias respuestas cardiovasculares, respiratoria y metabólica dirigidas a aliviar los efectos perjudiciales asociados con los estresores agudos (Barandica & Tort, 2008).

- **Eje HPI:** La primera hormona en el eje HPI es la hormona liberadora de la corticotropina (CRH), liberada por las neuronas hipotalámicas de la región pre-óptica. La CRH se ha encontrado en peces, con la hormona liberadora de la tiroides (TRH) (Barandica & Tort, 2008).

La TRH y la CRH estimulan la liberación de la Adenocorticotropina (ACTH), de la pituitaria, a inducir la producción y liberación del mayor esteroide estresor (cortisol), por las células interrenales, localizadas en el riñón anterior junto a las células cromafines, los folículos tiroideos, y una red vascular y nerviosa (Barandica & Tort, 2008).

El aumento de CRH provoca la liberación de otras hormonas como las endorfinas y los péptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC). Tanto ACTH como endorfinas y melanotrofinas se derivan de un precursor común, la POMC, y son sintetizados por dos tipos celulares: células corticotropas, de la parte anterior de la hipófisis que secreta como principal producto biológicamente activo la ACTH; en tanto que las hormonas estimulantes de los melanocitos ( $\alpha$ -MSH) y  $\beta$ -endorfinas, son los principales productos secretados por células melanotropas. La presencia de estos tipos celulares posibilitaría que diferentes tipos de estrés actúen sobre una u otra célula (Barandica & Tort, 2008).





**Figura 4** Esquema de la relación existente en la respuesta a un estímulo estresante  
Fuente: (Tort, 2011).

Nota: Hipotálamo-Hipófisis-Interrenal (HPI) y Hipotálamo-Simpático-Cromafin (HSC), SNC: sistema neurosecretor caudal (neurohipófisis), CRH: Coricotropina, TRH: Hormona liberadora de tiroides, ACTH: Adenocorticotropina, MSH: hormonas estimulantes de los melanocitos, A: Adrenalina y NA: Noradrenalina

#### 2.6.4 Respuestas primaria, secundaria y terciaria al estrés

- **Primaria:** Consiste en la activación de los núcleos cerebrales, células adenohipofisarias, tejido interrenal y cromafín, con un incremento en los niveles de catecolaminas y corticosteroides adrenales en plasma.
- **Secundaria:** Considerada como las modificaciones fisiológicas originadas por las catecolaminas y corticosteroides: aumento del consumo de oxígeno, actividad cardiaca, hiperglucemia, perturbaciones del equilibrio hidromineral, etc.
- **Terciaria:** Se extienden al nivel de organismo y la población: inhibición del crecimiento, problemas en la reproducción, perturbación del sistema inmune y disminución de la tolerancia a nuevas situaciones de estrés (Barandica & Tort, 2008).

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA

#### 3.1 Ubicación del lugar de investigación

##### 3.1.1 Ubicación política

El Centro Piscícola Nanegal, se ubica en el noroccidente de la provincia de Pichincha, cantón Quito, parroquia Nanegal, barrio La Delicia, vía Nanegalito-Nanegal, desvió a la comuna Marianitas. El proyecto pertenece al Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Pichincha (GADPP) y cuenta con una extensión de 1,5 ha.

##### 3.1.2 Ubicación geográfica

El Centro Piscícola Nanegal se encuentra a una altitud de 1199 msnm en las coordenadas UTM 17N 759 883, 0014 722. Limitado al Norte con la provincia de Imbabura, al sur con la parroquia Nono, al este con la parroquia de San José de Minas y Calacalí y al oeste con las parroquias de Gualea y Nanegalito.



*Figura 5* Ubicación del centro Piscícola Nanegal  
Fuente: (ArcGis, 2019)

### 3.1.3 Ubicación Ambiental

- Zona de vida: bosque húmedo premontano y montano bajo
- Altitud: 1 150 – 1 250 msnm
- Temperatura: 22 – 24 °C promedio, 28°C máxima y 12°C mínima
- Precipitación: 2 058,2 mm/año, 227,31 mm/mensual, siendo el mes más lluvioso abril con 77mm/día
- Humedad relativa: 86%
- Suelos: franco arenoso
- pH: 7,5

### 3.2 Material Experimental

Se utilizaron los siguientes materiales y equipos: sonda multiparamétrica YSI, Profesional Plus, espectrofotómetro Thermo Spectronic, microscopio binocular OLYMPUS, balanza digital *ae Adam*®, cámara de flujo laminar Airtech, cámara de incubación Memmert, autoclave vertical All American, insumo de laboratorio, reactivos y materiales de escritorio.

### 3.3 Métodos

#### 3.3.1 Instalación del ensayo

El proyecto contó con dos tanques de 20tn de capacidad de hormigón armado y dos de 4tn, con un sistema de aireación implementado. Los tanques se desinfectaron con 1,5 g/L de Nitro-desinfect (Amonio cuarentenario 20%), producto que funciona como viricida, fúngica y bactericida. Seguido se aplicó 0.08kg/m<sup>2</sup> de Carbonato de calcio como antiparasitaria.

Se evaluaron 2 factores: Sistemas de Cultivo: sistema biofloc (SB) y sistema tradicional (ST) y Dietas balanceadas para tilapia con la inclusión de nucleótidos a dos concentraciones (0.30 y 0.60g/100g de alimento balanceado). Cada dieta tuvo un testigo en donde no se inoculó el

complemento alimenticio (nucleótido). En total se obtuvieron 6 tratamientos con 3 repeticiones, en total se manejaron 18 unidades experimentales (jaulas de  $1\text{m}^3$ ). Cada unidad experimental mantuvo 60 peces por jaula con un total de 1080 unidades observacionales como se muestra en la figura 6.

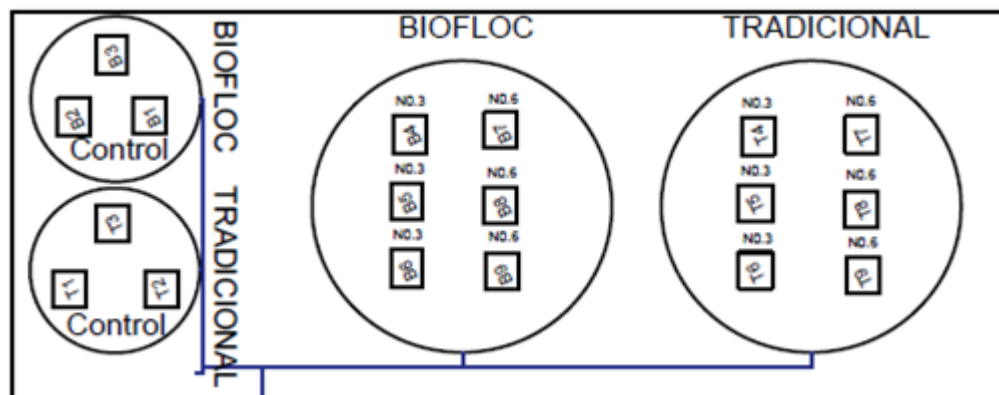


Figura 6 Disposición del experimento en campo

### 3.3.2 Formación del macrocosmos

En un tanque de 4tn se llenó  $2,8\text{ m}^3$  de agua filtrada siendo este el tanque madre. Se disolvió 84g de Nitrofoska (30% N - 10%  $\text{PO}_2$ - 10%  $\text{K}_2\text{O}$ ) en 5 litros de agua posteriormente se agrega al estanque, al día 2 se añadió 14L de chlorella biotipo 1 que es una alga verde aislada en el laboratorio de acuicultura IASA I que no genera toxinas, al día 3 se disolvió 1120g de melaza (40% de Nitrógeno) y al día 4 se pesó 700g de Pro-biótico PondPlus que contenía *Bacillus* sp a una concentración de  $1,50 \times 10^9 \frac{\text{UFC}}{\text{g}}$  y se añadió al tanque madre. Obteniendo una relación Carbono - Nitrógeno (C: N) de 20:1.

El proceso de maduración duró 25 días, durante este tiempo se evaluó cada tres días el indicativo de madurez que es el nivel de nitrógeno presente del biofloc: nitrito ( $\text{NO}_2$ ), nitrato ( $\text{NO}_3$ ) y amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), este último dependiendo de la temperatura se determinó su fracción tóxica.

Maduro el macrocosmo, se inoculó a uno de los tanques de 20 tn sumándole agua para cumplir con la columna de agua idónea y se continuó con la siembra de los organismos en cada unidad experimental. Los requerimientos mediados diariamente para la estabilidad del sistema fueron: pH, oxígeno disponible, sólidos totales, temperatura, niveles de nitrógeno y tamaño de flóculos.

### 3.3.3 Siembra de organismos

Para el establecimiento del proyecto de investigación se utilizaron 1080 alevines de tilapia provenientes de la Piscícola Nanegal de  $0,66 \pm 0,03\text{g}$  los cuales tuvieron un período de adaptación de 10 días, previo a la siembra e inicio del ensayo. Se manejó una densidad de carga animal de 60 animales por metro cúbico.

### 3.3.4 Mantenimiento del sistema biofloc

Para mantener la relación carbono: nitrógeno (20:1), se calculó la cantidad de melaza necesaria cada 3 días, considerando aplicar 1g de balanceado GISCIS para tilapia con el 45% de proteína, el cálculo fue el siguiente según (Avnimelech P. D.-S., 2015):

Cantidad de proteína en balanceado (45%)

$$1\text{g balanceado} \rightarrow 100\%$$

$$X \rightarrow 45\%$$

$$X = 0,45\text{g Proteína}$$

Cantidad de nitrógeno en la proteína (16%)

$$0,45\text{g Proteína} \rightarrow 100$$

$$X \rightarrow 16\%$$

$$X = 0,072\text{g Nitrógeno}$$

Cantidad de nitrógeno excretado (70%)

0,072g Nitrógeno amoniacal  $\rightarrow$  100%

X  $\rightarrow$  70%

X= 0,0504g Nitrógeno amoniacal

Cantidad de carbono, relación C: N, 20:1

0,0504g Nitrógeno amoniacal  $\rightarrow$  1

X  $\rightarrow$  20

X= 1,008 g Carbono

Cantidad de melaza (40% Carbono)

1g Melaza  $\rightarrow$  0,4g Carbono

X  $\rightarrow$  1,008g Carbono

X= 2,52g Melaza

De este modo fue necesario aplicar al medio acuático 2,52g de melaza por gramo de alimento balanceado cada 3 días, manteniendo la relación C: N; 20:1 y semanalmente se realizó la reposición de agua evaporada, mientras que en el sistema tradicional se contó con un recambio de agua diario del 10%.

Se procuró mantener 200ppm de sólidos totales como óptimo en el sistema tipo Biofloc y como máximo 300ppm (Reinoso, 2016). En el caso de cantidades mayores de sólidos se realizó una renovación de agua de la piscina del 25%, y llenar con agua filtrada.

El sistema biofloc estuvo en constante aireación de agua mediante un blower de 2,5 HP y suplir las necesidades del cultivo (Boyd, 1998).

- Necesidades principales del biofloc:
- Las necesidades de respiración de la especie cultivada.

- La respiración y reacciones de nitrificación propias en la metabolización de compuestos nitrogenados tóxicos de los microorganismos contenidos en el sistema.
- Mantener los biofloc en suspensión constante para evitar la decantación y cúmulo de sólidos que conduzcan a reacciones anaerobias que produzcan metabolitos tóxicos letales que puedan llegar a afectar el cultivo.

**Tabla 11***Parámetros de mantenimiento de biofloc*

<b>Parámetro</b>	<b>Nivel Óptimo</b>
Relación C: N	20:1
SST	200 ppm
pH	7-8
Oxígeno	<5 mg/l
Temperatura	24-32°C
Nitrito (NO <sub>2</sub> )	+/- 0,79 ppm
Amonio (NH <sub>4</sub> )	>0.40 ppm
Fracción tóxica NH <sub>4</sub>	0,001ppm

Fuente: (Avnimelech, et al., 2015)

### 3.3.5 Alimentación

Se realizó a base del balanceado para tilapia de la marca comercial Piscis con el 45% de proteína con la inclusión de nucleótidos a dosis de: 0,30 y 0,60 g con una frecuencia de 6 veces al día, cabe recalcar que el alimento como los g/día van diferir según la edad del pez de acuerdo a la tabla 12. La alimentación fue correspondiente al 5% de la biomasa.

**Tabla 12**  
*Ración alimenticia para Tilapia*

<b>Tipo de alimento</b>	<b>Peso unidad (g)</b>	<b>Tasa alimenticia (%)</b>	<b>Frecuencia - día</b>	<b>Tamaño (mm)</b>	<b>Proteína (%)</b>
T inicial 1	< 1	10 - 30	8 – 10	1.5	45
T inicial 2	1 – 20	4.5 - 10	6 – 8	2	45
T crecimiento 1	20 – 100	3 - 4.5	4 – 6	3	32
T crecimiento 2	100 – 200	2.5 - 3	3 – 4	4	32
T engorde	> 200	1.5 - 2.5	2 – 3	5	28 - 18

Fuente: (Ortiz, 2015)

La inclusión del nucleótido se lo realizó de la siguiente manera:

- Se midió 100ml de agua purificada en un matraz.
- Se calentó el agua a 60°C
- Se disolvió 2g de gelatina sin sabor en el agua previamente calentada
- Se dejó enfriar la solución de gelatina (15 a 20°C)
- Se pesó 0,30 y 0,60g de nucleótido
- Se pesó un kilo de alimento balanceado y se rociará con la solución de gelatina
- Se agregó el nucleótido pesado al balanceado humedecido con la solución de gelatina
- Se dejó secar y se enfundó
- Se conservó en refrigeración a 4°C

La adición de gelatina va a mejorar la estabilidad física del alimento actuando como aglutinante y va a mantener la integridad del pellet.

### 3.3.6 Factores

- **Sistema de producción (S):**

S1: Biofloc

S2: Tradicional



- **Dietas (A):**

A1: Balanceado (control)

A2: Balanceado + 0,30g de nucleótidos

A3: Balanceado + 0,60 g de nucleótido

- **Tomas de muestras y seguimiento (T):**

T1: 0 días

T2: 10 días

T3: 20 días

T4: 30 días

T5: 40 días

T6: 50 días

T7: 60 días

T8: 70 días

T9: 80 días

T10: 90 días

### 3.3.7 Tratamientos

**Tabla 13**

*Tratamientos planteados para el desarrollo del proyecto de investigación*

<b>Tratamiento</b>	<b>Sistema de producción</b>	<b>Sistema de alimentación</b>
T1	Biofloc	Control
T2	Tradicional	Control
T3	Biofloc	0,30 g de nucleótido
T4	Tradicional	0,30 g de nucleótido
T5	Biofloc	0,60 g de nucleótido
T6	Tradicional	0,60 g de nucleótido

### 3.3.8 Tipo de diseño experimental

Se aplicó como estructura de parcelas un diseño completamente al azar en parcela subdividida con estructura de tratamientos un trifactorial ( $2 \times 3 \times 10$ ) con 3 repeticiones, siendo los sistemas de producción la parcela grande, la dieta alimenticia la parcela mediana y el tiempo la parcela pequeña.

### 3.3.9 Características de las unidades experimentales

Se instalaron 18 unidades experimentales (UE), las cuales fueron jaulas de 1 metro cúbico de capacidad. En cada unidad experimental se dispuso de una carga animal de 60 peces, teniendo un total de 1080 peces en el ensayo.

## 3.4 Variables a medir

### 3.4.1 Variables de calidad de agua

- **Amonio, Nitritos y Nitratos:** Estos parámetros fueron determinados utilizando el kit Ammonia Reagent mediante el espectrofotómetro YSI 9000, las mediciones se realizaron cada 3 días hasta que se regulen los niveles de nitrógeno tóxico.

- **Temperatura, pH y oxígeno disponible ( $O_2$ ), conductividad y total de sólidos suspendidos (SST):** Estos valores se midieron diariamente con la sonda multiparamétrica YSI, Profesional Plus.
- **Unidades formadoras de colonias (UFC):** Se realizó cultivos bacterianos cada 14 días, sembrando muestras de Biofloc diluidas 1:100 por el método de inundación ( $50\mu L$ ) en 6 medios, y se inoculó por 18 - 24 horas a 35-37 °C:
  - Agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe): Aislamiento y recuento de lactobacilos y otras bacterias ácidas lácticas.
  - Agar MK (MacConkey): Aislamiento de bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios facultativos. Todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae*.
  - Agar EAM (Eosina y Azul de Metileno): Aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae*.
  - Agar SAL (Salmonella Shigella): Selectivo y diferencial para el aislamiento de *Salmonella* spp. y algunas especies de *Shigella* spp.
  - Agar Chapman (Manitol Salado): Medio selectivo para el aislamiento y diferenciación de estafilococos.
  - Agar CET: Aislamiento selectivo de *Pseudomonas aeruginosa* y de otras especies del género (Britania, 2015).
- **Identificación bacteriana:** Se aislaron colonias bacterianas para sembrar en las baterías bioquímicas tradicionales detalladas en la tabla 14.

**Tabla 14***Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana*

<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>
Citrato	Utilización de citrato
Agua peptonada	Reacción a indol
SIM	Movilidad Producción de SH <sub>2</sub>
Triple azúcar hierro (TSI)	Producción de gas a partir de glucosa Producción de ácido a partir de glucosa lactosa y/o sacarosa Producción de ácido sulfúrico Producción de gas
Catalasa	Presencia de catalasa
Urea	Degradación de la urea
Tinción	Gram positiva o negativa

Fuente: (Alvarez, Boquet, &amp; Fez, 1990)

Los resultados de las pruebas bioquímicas fueron sometidos al análisis e identificación mediante el software ABIS online.

### 3.4.2 Análisis Metagenómico

#### 3.4.2.1 Toma de muestras para el análisis intestinal:

- Se tomaron 5 animales de cada tratamiento y se colocaron en agua con eugenol.
- Se realizó una incisión a nivel ventral para obtener 3 ml del tejido intestinal.
- Se colocó en una solución salina al 5 %, para obtener la muestra sin residuos.
- Se almacenó en tubos eppendorf previamente etiquetados con etanol absoluto para mantener la integridad.
- Se separó los intestinos del alcohol y se evaporó por 30 minutos en el termobloque.
- Se colocó la muestra en morteros completamente esterilizados, y se colocó el buffer contenido en el PowerBead Tube, la muestra fue completamente molida, se recogió con una pipeta para regresar la muestra al tubo.

- El alcohol que conservaba la muestra fue precipitado a 10000 rpm por 10 minutos, se eliminó el alcohol y el pellet resultante fue incorporado al PowerBead Tube.
- Se continuó la extracción de ADN según el protocolo del kit.

#### **3.4.2.2 Toma de muestras para el análisis de heces:**

- Se homogenizó las muestras por pipeteo en el alcohol preservante, y se tomó una alícuota de 200 $\mu$ l del homogenizado.
- Se precipitó las muestras a 10000 rpm por 10 minutos, y se eliminó el alcohol sobrante.
- Se dejó secar el alcohol impregnado en un termobloque a 60°C con los tubos destapados por 1 hora.
- Se llevó las muestras a la etapa de extracción según el protocolo del fabricante.

#### **3.4.2.3 Toma de muestras para el análisis de agua:**

- Se tomó 1 litro de agua de los dos sistemas de producción.
- Se agitaron las muestras vigorosamente durante 5 minutos, y se tamizaron mediante un cernidero para eliminar sólidos grandes.
- Se tamizó en algodón y gasa, a fin de eliminar sólidos suspendidos de tamaño menor
- Se filtró las muestras en papel whatman convencional para seguir eliminando los sólidos suspendidos y concentrar las bacterias.
- Para la muestra de agua tradicional se filtró con un tamaño de poro de 0,2 $\mu$ m CORNING para concentrar las bacterias en el filtro.
- Para la muestra de biofloc, se filtró con un tamaño de poro de 0,45 $\mu$ m CORNING, se filtró por segunda vez con un tamaño de poro de 0,2 $\mu$ m CORNING
- El filtrado se llevó a cabo hasta que los filtros fueron saturados.

- Se retiró el filtro de su recipiente, se cortó en pequeños trozos para la extracción de ADN establecido
- en el kit DNeasy PowerSoil.

#### **3.4.2.4 Purificación de ADN genómico de tejido animal:**

- Se seleccionó 1-20 mg de tejido animal y se transfirió a un mortero, previamente enfriado en hielo. Se molió vigorosamente para obtener una mezcla homogénea.
- Se adhirió 350 µl del buffer de fosfato salino y 0,9 µl de RNA. Se molió suavemente durante 30 segundos para homogenizar el PBS con el tejido molido.
- Se colocó 350 µl de la mezcla homogenizada y se transfirió a un tubo de microcentrífuga de 2 ml.
- Se agregó 20 µl de proteinasa K y 150 µl de buffer G-L. Se mezcló mediante un vortex por 1 min.
- Se incubó a 56°C por 10 min.
- Se agregó 350 µl del Buffer P-D a la muestra y se agitó en vortex por 30 segundos.
- Se centrifugó a 12000xg por 10 min a temperatura ambiente para sedimentar los desechos celulares.

La extracción de DNA fue realizada en el laboratorio de Agrobiotecnología y la secuenciación fue realizada en la empresa Macrogen Inc., el método de secuenciación fue: amplificación de la región V3-V5 del gen ribosomal 16S.

### 3.4.3 Variables morfométricas

Las variables descritas fueron realizadas de una muestra de 15 animales por unidad experimental aplicando la siguiente fórmula:

$$2\sqrt{n}$$

*n = animales por unidad experimental*

- **Peso:** La variable fue medida mediante una balanza electrónica cada 10 días, tomando el peso en gramos.
- **Longitud total:** La variable fue medida en centímetros, cada 10 días.
- **Ancho total:** La variable fue medida en centímetros cada 10 días.

### 3.4.4 Parámetros productivos

- **Ganancia de peso:** Se obtuvo mediante una balanza electrónica al inicio y final del proyecto, mediante la siguiente fórmula:

Ganancia de peso = Peso final – Peso inicial

- **Tasa de crecimiento específico:** Permite conocer el porcentaje de crecimiento diario de los individuos a partir de los registros del peso, mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$TCE = \frac{(\ln Pf - \ln Pi)}{tf - ti} \times 100$$

Dónde: Ln: Logaritmo natural

Pf: Peso final

Pi: Peso inicial

tf: Tiempo final

ti: Tiempo inicial

- **Tasa de conversión alimenticia:** Cantidad de alimento que se necesitó para producir un gramo de peso vivo, aplicando la siguiente fórmula:

$$TCA = \frac{\textit{Alimento consumido}}{\textit{Incremento de peso}}$$

- **Índice condición corporal:** Condición del animal que desarrolló durante el tiempo de la investigación, para el cálculo se aplicó la siguiente fórmula:

$$K = \left(\frac{W}{L^3}\right) \times 100$$

Dónde: K: Condición del individuo.

W: Peso corporal húmedo en gramos (g).

L: Longitud del pez en centímetros (cm).

- **Productividad:** Se determinó la biomasa de cada tratamiento y superficie en la que se encontraban, mediante la siguiente fórmula:

$$\textit{Productividad} = \frac{\textit{Biomasa (g)}}{\textit{Superficie (m}^3\textit{)}}$$

### 3.4.5 Biofloc

- **Cantidad de bio-flóculos:** Se midió en base a una muestra de 15 ml de biofloc para dispensar en tubos falcón y observar en un período de 2 horas.
- **Microorganismos presentes:** Se recolectaron muestras de 1,5ml cada 14 días para identificar protozoarios y microalgas presente en los flóculos, mediante el microscopio óptico con el lente 10x y 40x, posteriormente se identificó con el libro de Zoología de los invertebrados (Ruppert & Barnes, 1996) y Diversidad de los protozoos ciliados (Lubel, Reyes, & Olvera, 2009).



### 3.5 Análisis estadístico

Los datos de las variables se disponen bajo un diseño completamente al azar en parcela Sub-dividida ( $2 \times 3 \times 10$ ) con 3 repeticiones, como muestra la tabla 15.

**Tabla 15**

*Análisis de varianza para un diseño en parcela subdividida ( $2 \times 3 \times 10$ ) con 3 repeticiones*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Sistema de producción (S)	$2-1=1$
Error (S)	$2(3-1) =4$
Sistema de alimentación (A)	$3-1=2$
$S \times A$	$1 \times 2=2$
Error (A)	$2(3-1) (3-1) =8$
Tiempo (T)	$10-1=9$
$S \times T$	$1 \times 9=9$
$A \times T$	$2 \times 9=18$
$S \times A \times T$	$1 \times 2 \times 9=18$
Error experimental	108
Total	$180-1=179$

### 3.6 Análisis de la información

Las variables a evaluar se caracterizaron mediante estadística descriptiva: media y error estándar. Para las variables productivas (ICC, FCA, TCE, GP) y morfométricas (LP, LT, PESO-raíz cuadrada, AT), se realizaron análisis de varianza usando modelos lineales generales y mixtos, y diagramas de perfiles multivariados, debido a que estas variables se observaron cada 10 días y se analizaron mediante el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + \delta l(i) + A_j + SA_{ij} + \lambda l(j) + T_k + ST_{ik} + AT_{jk} + STA_{ijk} + e_{ijkl}$$

$Y_{ijk}$  = Producción de Tilapia

$\mu$  = Media general

$S_i$  = Efecto de la i-ésima sistema de producción

$\delta k(i)$  = Error del sistema de producción

$A_j$  = Efecto de la j-ésima sistema de alimentación

$SA_{ij}$  = Efecto de la interacción sistema de producción por sistema de alimentación

$\lambda j(i)$  = Error del sistema de alimentación

$T_k$  = Efecto de la k-ésima tiempo

$ST_{ik}$  = Efecto de la interacción sistema de producción por tiempo

$AT_{jk}$  = Efecto de la interacción sistema de alimentación por tiempo

$STA_{ijk}$  = Efecto de la interacción sistema de producción por sistema de alimentación por tiempo

$e_{ijk}$  = Error experimental

El supuesto de normalidad fue evaluado usando QQ-plot y la prueba de Shapiro-Wilks. Además, se realizó la prueba de comparación de medias DGC un nivel de confiabilidad del 5% para el tipo de sistema de producción, dieta, tiempo e interacciones. Todos los análisis se realizaron en el software estadístico INFOSTAT y su interface con el software R (Di-Rienzo, 2008).

## CAPÍTULO IV

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1 Resultados

## 4.1.1 Variables métricas

## 4.1.1.1 Peso, largo total, largo parcial y ancho total

El peso y largo total, mostraron un efecto significativo para la interacción sistema  $\times$  dieta  $\times$  tiempo ( $F = 3,81$ ;  $p < 0,0366$ , Tabla 16). Los animales bajo el sistema biofloc presentaron mayor promedio de peso y largo total que los animales bajo el sistema tradicional. Las tilapias bajo los dos sistemas productivos con la inclusión de 0,60g de nucleótidos presentaron mayor promedio de peso y largo total a los 90 días que el resto de tratamientos.

**Tabla 16**

*Promedio  $\pm$  error estándar del peso corporal y largo total de Oreochromis sp para dos sistemas de producción y alimentación con tres niveles de nucleótidos durante 90 días*

Tiempo (días)	Sistema	Dieta (g)	PC (g)	LT (cm)
0	Biofloc	0	0,68 $\pm$ 0,01 p	3,24 $\pm$ 0,13 m
		0,3	0,66 $\pm$ 0,01 p	3,39 $\pm$ 0,07 m
		0,6	0,65 $\pm$ 0,01 p	3,49 $\pm$ 0,06 m
	Tradicional	0	0,66 $\pm$ 0,00 p	3,66 $\pm$ 0,09 m
		0,3	0,67 $\pm$ 0,01 p	3,37 $\pm$ 0,28 m
		0,6	0,67 $\pm$ 0,02 p	2,83 $\pm$ 0,24 n
10	Biofloc	0	1,11 $\pm$ 0,05 o	3,73 $\pm$ 0,14 m
		0,3	1,33 $\pm$ 0,02 o	3,93 $\pm$ 0,15 m
		0,6	1,58 $\pm$ 0,05 n	4,17 $\pm$ 0,11 l
	Tradicional	0	1,05 $\pm$ 0,03 o	3,71 $\pm$ 0,16 m
		0,3	1,20 $\pm$ 0,03 o	3,90 $\pm$ 0,15 m
		0,6	1,28 $\pm$ 0,01 o	3,77 $\pm$ 0,12 m
20	Biofloc	0	1,56 $\pm$ 0,08 n	4,21 $\pm$ 0,14 l
		0,3	2,07 $\pm$ 0,04 n	4,47 $\pm$ 0,24 l
		0,6	2,52 $\pm$ 0,08 m	4,86 $\pm$ 0,18 l
	Tradicional	0	1,54 $\pm$ 0,04 n	3,77 $\pm$ 0,28 m
		0,3	1,81 $\pm$ 0,07 n	4,43 $\pm$ 0,11 l

CONTINUACIÓN 

		0,6	$1,94 \pm 0,00$ n	$4,70 \pm 0,06$ l
		0	$3,06 \pm 0,09$ m	$4,99 \pm 0,13$ l
	Biofloc	0,3	$3,89 \pm 0,12$ l	$5,50 \pm 0,20$ k
		0,6	$4,95 \pm 0,02$ k	$5,80 \pm 0,19$ k
30		0	$2,46 \pm 0,06$ m	$5,49 \pm 0,58$ k
	Tradicional	0,3	$2,82 \pm 0,08$ m	$4,92 \pm 0,08$ l
		0,6	$2,49 \pm 0,08$ m	$4,80 \pm 0,10$ l
		0	$5,59 \pm 0,09$ k	$6,37 \pm 0,22$ j
	Biofloc	0,3	$5,64 \pm 0,04$ k	$6,43 \pm 0,21$ j
40		0,6	$7,87 \pm 0,04$ j	$7,19 \pm 0,10$ i
		0	$3,83 \pm 0,04$ l	$5,64 \pm 0,18$ k
	Tradicional	0,3	$4,99 \pm 0,03$ k	$6,30 \pm 0,09$ j
		0,6	$5,63 \pm 0,04$ k	$6,51 \pm 0,12$ j
		0	$9,29 \pm 0,13$ i	$7,27 \pm 0,09$ i
	Biofloc	0,3	$10,17 \pm 0,08$ i	$7,83 \pm 0,13$ h
50		0,6	$13,03 \pm 0,14$ h	$8,39 \pm 0,26$ h
		0	$6,93 \pm 0,02$ j	$6,87 \pm 0,15$ i
	Tradicional	0,3	$8,22 \pm 0,04$ j	$7,28 \pm 0,05$ i
		0,6	$9,16 \pm 0,02$ i	$7,62 \pm 0,05$ h
		0	$18,41 \pm 0,25$ g	$9,30 \pm 0,09$ g
	Biofloc	0,3	$21,25 \pm 0,26$ f	$9,37 \pm 0,06$ g
60		0,6	$26,25 \pm 0,08$ e	$10,70 \pm 0,08$ e
		0	$11,90 \pm 0,11$ h	$8,22 \pm 0,08$ h
	Tradicional	0,3	$14,17 \pm 0,07$ h	$8,26 \pm 0,12$ h
		0,6	$15,81 \pm 0,12$ h	$9,18 \pm 0,15$ g
		0	$24,08 \pm 0,15$ f	$10,17 \pm 0,03$ f
	Biofloc	0,3	$33,70 \pm 0,05$ d	$11,72 \pm 0,17$ d
70		0,6	$40,59 \pm 0,12$ c	$12,50 \pm 0,12$ c
		0	$15,05 \pm 0,01$ h	$9,32 \pm 0,11$ g
	Tradicional	0,3	$18,69 \pm 0,05$ g	$9,90 \pm 0,05$ f
		0,6	$23,94 \pm 0,14$ f	$10,56 \pm 0,34$ e
		0	$30,57 \pm 0,09$ e	$11,65 \pm 0,11$ d
	Biofloc	0,3	$41,59 \pm 0,06$ c	$12,82 \pm 0,07$ c
80		0,6	$57,30 \pm 0,20$ b	$14,02 \pm 0,31$ b
		0	$24,05 \pm 0,24$ f	$10,19 \pm 0,49$ f
	Tradicional	0,3	$23,55 \pm 0,09$ f	$10,73 \pm 0,05$ e
		0,6	$30,25 \pm 0,19$ e	$11,48 \pm 0,23$ d
		0	$40,84 \pm 0,25$ c	$12,81 \pm 0,17$ c
90	Biofloc	0,3	$54,99 \pm 0,30$ b	$13,89 \pm 0,21$ b
		0,6	$70,51 \pm 0,09$ a	$14,91 \pm 0,19$ a

CONTINUACIÓN



	0	28,68 ± 0,21 e	11,07 ± 0,13 e
Tradicional	0,3	27,70 ± 0,06 e	11,15 ± 0,12 e
	0,6	36,64 ± 0,16 d	12,23 ± 0,22 c

Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ). PC=Peso corporal (g), LT=Largo total (cm)

El largo parcial y ancho total, mostró un efecto significativo para la interacción sistema × dieta ( $F = 9,57$ ;  $p = 0,0104$ , Tabla 17); sin embargo, se encontró un efecto significativo del tiempo ( $F = 960,44$ ;  $p < 0,0001$ , Tabla 18). Los animales bajo el sistema tradicional y biofloc con la inclusión de 0,60g de nucleótidos presentaron mayor promedio de largo parcial y ancho total a los 90 días que el resto de los tratamientos.

**Tabla 17**

*Promedio ± error estándar del largo parcial y ancho total de Oreochromis sp para dos sistemas de producción y alimentación con tres niveles de nucleótidos en 90 días*

Sistema	Dieta	LP (cm)	AT (cm)
Biofloc	0,00g	6,04 ± 0,50 c	2,33 ± 0,20 c
	0,30g	6,57 ± 0,54 b	2,54 ± 0,23 b
	0,60g	7,22 ± 0,71 a	2,84 ± 0,27 a
Tradicional	0,00g	5,46 ± 0,40 e	2,07 ± 0,16 e
	0,30g	5,65 ± 0,41 d	2,19 ± 0,16 d
	0,60g	6,00 ± 0,48 c	2,33 ± 0,19 c

Media en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ). LP= Largo Parcial, AT=Ancho Total

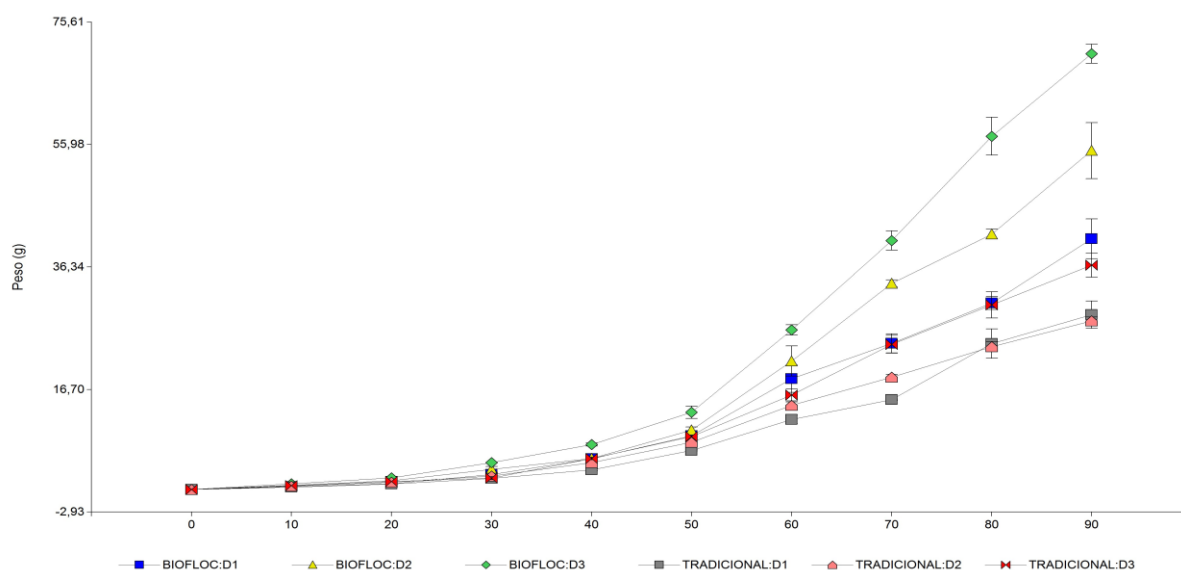
**Tabla 18**

*Promedio ± error estándar del largo parcial y ancho total de Oreochromis sp para 90 días*

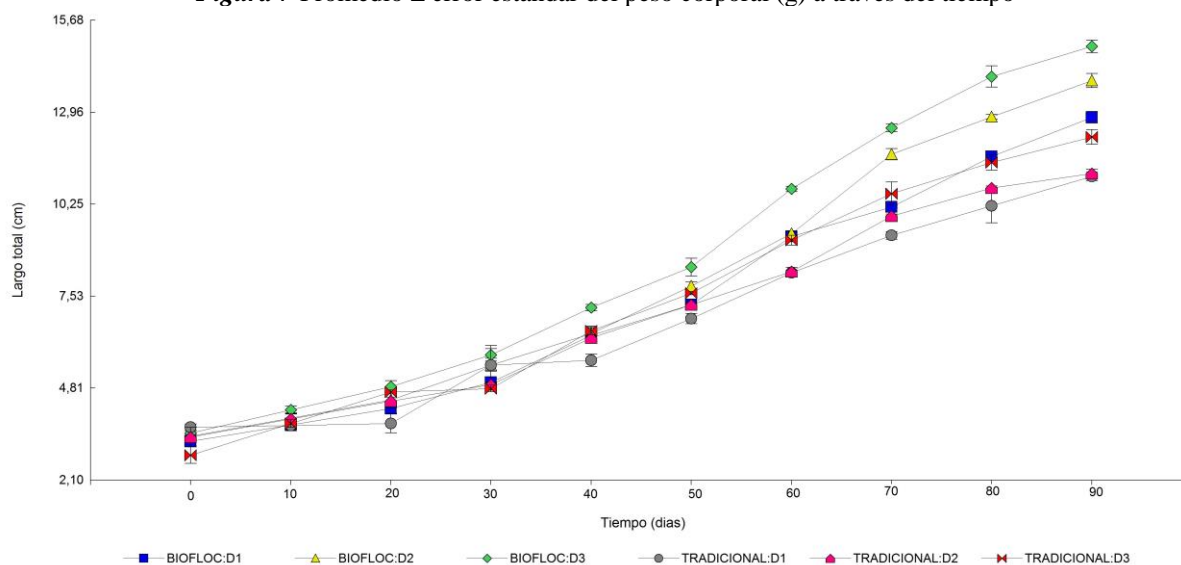
Tiempo	LP (cm)	AT (cm)
0	2,81 ± 0,13 i	1,04 ± 0,02 j
10	3,17 ± 0,07 h	1,20 ± 0,03 i
20	3,53 ± 0,07 h	1,36 ± 0,06 h
30	4,19 ± 0,09 g	1,55 ± 0,04 g
40	5,19 ± 0,10 f	1,99 ± 0,04 f
50	6,19 ± 0,11 e	2,40 ± 0,07 e
60	7,4 ± 0,16 d	2,87 ± 0,09 d
70	8,77 ± 0,22 c	3,42 ± 0,12 c
80	9,63 ± 0,28 b	3,86 ± 0,13 b
90	10,67 ± 0,55 a	4,17 ± 0,15 a

Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ). LP=Largo parcial (g), AT=Ancho total (cm)

Las variables morfométricas: peso, largo total; de los peces bajo el sistema biofloc y tradicional alimentados con 0,60g de nucleótidos mostraron los mayores valores a los 90 días de la investigación; para el sistema biofloc (70,51g y 14,91cm); para el sistema tradicional (36,64g y 12,23cm), respectivamente. Los animales del sistema biofloc con y sin la inclusión de nucleótidos superaron al sistema tradicional en todas las variables evaluadas (figura 7 y 8).



**Figura 7** Promedio  $\pm$  error estándar del peso corporal (g) a través del tiempo



**Figura 8** Promedio  $\pm$  error estándar del largo total (cm) a través del tiempo

## 4.1.2 Parámetros productivos

### 4.1.2.1 Ganancia de peso e índice de condición corporal

El análisis de varianza para la ganancia de peso mostró un efecto significativo para la interacción sistema × dieta × tiempo ( $F = 2,10$ ;  $p = 0,0132$ ; Tabla 19). Los animales bajo el sistema biofloc presentaron mayor ganancia de peso que los animales bajo el sistema tradicional al día 50-60 y al día 80-90. Los animales alimentados con 0,60g de nucleótidos presentan mayor ganancia de peso en los dos sistemas de producción a partir del día 30 al día 90 (figura 9).

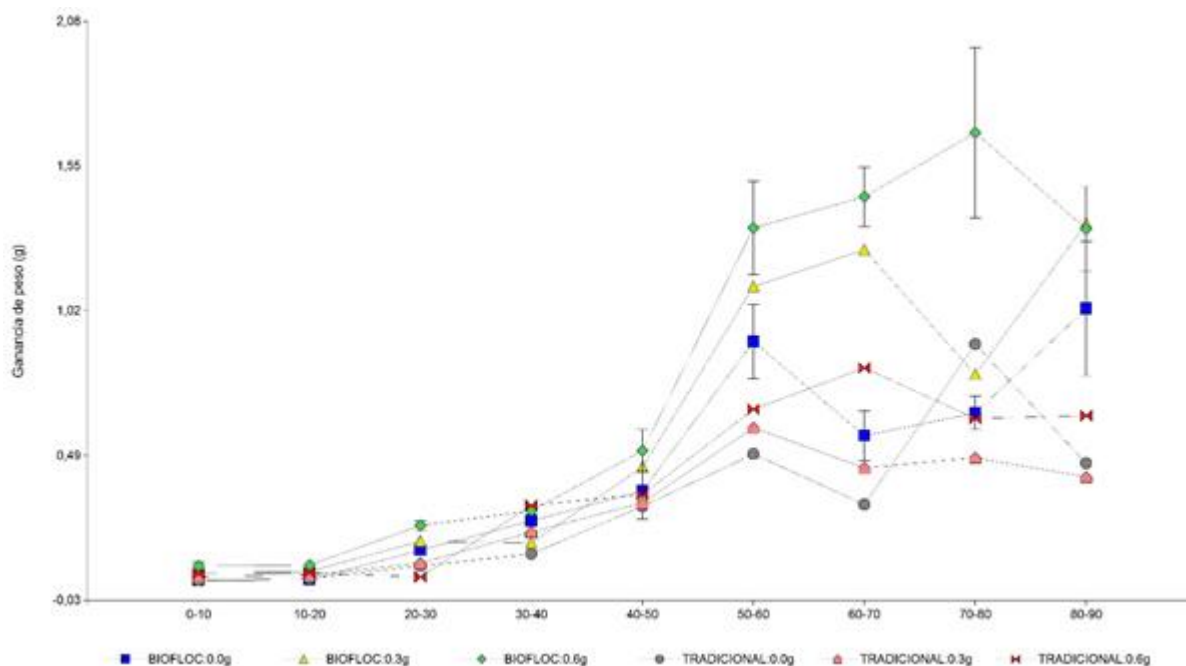
**Tabla 19**

*Promedio ± error estándar de la ganancia de peso de Oreochromis sp para dos sistemas de producción alimentados con tres niveles de nucleótidos en dietas balanceadas durante 90 días*

Biofloc			Tradicional		
0,00	0,30	0,60	0,00	0,30	0,60
GP (g/cada 10 días)					
0,04 ± 0,01 a	0,07 ± 0,01 a	0,09 ± 0,01 a	0,04 ± 0,01 b	0,05 ± 0,01 b	0,06 ± 0,00 b
0,04 ± 0,01 b	0,07 ± 0,01 a	0,10 ± 0,01 a	0,05 ± 0,03 a	0,06 ± 0,01 b	0,07 ± 0,03 b
0,15 ± 0,02 b	0,18 ± 0,04 a	0,24 ± 0,02 a	0,09 ± 0,03 b	0,10 ± 0,01 b	0,05 ± 0,02 a
0,26 ± 0,02 a	0,18 ± 0,06 a	0,29 ± 0,01 a	0,14 ± 0,02 b	0,22 ± 0,02 b	0,31 ± 0,03 b
0,37 ± 0,10 b	0,45 ± 0,05 b	0,51 ± 0,08 b	0,31 ± 0,03 b	0,32 ± 0,02 b	0,35 ± 0,03 b
0,91 ± 0,14 b	1,11 ± 0,21 c	1,32 ± 0,17 b	0,50 ± 0,07 c	0,60 ± 0,06 b	0,66 ± 0,11 b
0,57 ± 0,09 c	1,24 ± 0,29 c	1,44 ± 0,11 b	0,32 ± 0,08 c	0,45 ± 0,03 c	0,81 ± 0,08 d
0,65 ± 0,06 d	0,79 ± 0,08 d	1,67 ± 0,31 c	0,90 ± 0,24 d	0,49 ± 0,04 d	0,63 ± 0,07 d
1,03 ± 0,24 d	1,34 ± 0,47 d	1,32 ± 0,16 c	0,47 ± 0,11 d	0,42 ± 0,06 d	0,64 ± 0,02 d

Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ). GP= Ganancia de peso

Las tilapias cultivadas en el sistema biofloc entre los días 70 al 80 obtuvieron mayor ganancia de peso (1,67 g/día), a su vez en el sistema tradicional entre los días 60 al 70 obtuvieron la mayor ganancia (0,81 g/día), alimentados con 0,6g de nucleótidos. Recalcando que los tratamientos del sistema biofloc fueron mejores respecto a los tratamientos del sistema tradicional.



**Figura 9** Promedio  $\pm$  error estándar de la ganancia de peso (g/día) a través del tiempo

El índice de condición corporal no mostró un efecto significativo para la interacción sistema  $\times$  dieta  $\times$  tiempo ( $F = 1,65$ ;  $p = 0,0590$ ), solamente para el tiempo ( $F = 2,72$ ;  $p = 0,0064$ , Tabla 20). En los días 20, 30 y 60 se evidenciaron el mayor índice de condición corporal en los dos sistemas de producción.

**Tabla 20**

*Promedio  $\pm$  error estándar del índice de condición corporal de *Oreochromis sp* durante 90 días*

Tiempo (días)	ICC
0	1,98 $\pm$ 0,23 b
10	2,19 $\pm$ 0,09 a
20	2,29 $\pm$ 0,16 a
30	2,28 $\pm$ 0,11 a
40	2,10 $\pm$ 0,04 b
50	2,18 $\pm$ 0,05 a
60	2,29 $\pm$ 0,08 a
70	2,05 $\pm$ 0,05 b
80	2,03 $\pm$ 0,04 b
90	2,04 $\pm$ 0,03 b

Media en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ).

ICC= Índice de Condición Corporal



#### 4.1.2.2 Tasa de crecimiento específico, eficiencia alimenticia y factor de conversión alimenticia

El análisis estadístico para la tasa de crecimiento específico y eficiencia alimenticia mostró un efecto significativo para la interacción dieta  $\times$  tiempo ( $F = 2,58$ ;  $p < 0,038$ , Tabla 21), y el sistema ( $F = 12,12$ ;  $p < 0,0012$ , Tabla 22). Los peces bajo el sistema biofloc presentaron mayor tasa de crecimiento específico, y eficiencia alimenticia que los animales bajo el sistema tradicional.

**Tabla 21**

*Promedio  $\pm$  error estándar de la tasa de crecimiento específico y eficiencia alimenticia de Oreochromis sp alimentadas con tres niveles de nucleótidos en dietas balanceadas durante 90 días*

Tiempo (Días)	Dieta (g)	TCE (g)	EA (%)
0-10	0,00	4,73 $\pm$ 0,46 c	74,65 $\pm$ 5,98 c
	0,30	6,41 $\pm$ 0,48 b	94,04 $\pm$ 5,24 b
	0,60	7,66 $\pm$ 0,62 a	106,16 $\pm$ 5,64 a
10-20	0,00	3,56 $\pm$ 0,16 c	59,85 $\pm$ 2,21 c
	0,30	4,24 $\pm$ 0,25 c	68,96 $\pm$ 3,35 c
	0,60	4,43 $\pm$ 0,16 c	71,53 $\pm$ 2,02 c
20-30	0,00	5,74 $\pm$ 0,80 b	85,42 $\pm$ 9,90 b
	0,30	5,33 $\pm$ 0,68 b	81,34 $\pm$ 7,34 b
	0,60	4,61 $\pm$ 1,13 c	69,82 $\pm$ 14,61 c
30-40	0,00	5,27 $\pm$ 0,54 b	81,06 $\pm$ 6,70 b
	0,30	4,82 $\pm$ 0,85 c	74,09 $\pm$ 11,61 c
	0,60	6,43 $\pm$ 0,91 b	92,74 $\pm$ 9,18 b
40-50	0,00	5,50 $\pm$ 0,66 b	83,30 $\pm$ 8,11 b
	0,30	5,44 $\pm$ 0,35 b	83,54 $\pm$ 3,98 b
	0,60	4,93 $\pm$ 0,29 c	77,58 $\pm$ 3,62 c
50-60	0,00	6,07 $\pm$ 0,41 b	90,54 $\pm$ 4,67 b
	0,30	6,36 $\pm$ 0,60 b	93,14 $\pm$ 6,18 b
	0,60	6,25 $\pm$ 0,68 b	91,65 $\pm$ 7,12 b
60-70	0,00	2,59 $\pm$ 0,42 d	44,88 $\pm$ 6,39 d
	0,30	3,76 $\pm$ 0,71 c	60,90 $\pm$ 9,38 c
	0,60	4,25 $\pm$ 0,20 c	69,13 $\pm$ 2,72 c
70-80	0,00	3,50 $\pm$ 0,70 c	57,37 $\pm$ 9,48 c
	0,30	2,20 $\pm$ 0,12 d	39,51 $\pm$ 1,89 d

CONTINUACIÓN



	0,60	2,88 ± 0,37 d	49,56 ± 5,32 d
	0,00	2,33 ± 0,40 d	40,84 ± 6,47 d
80-90	0,30	2,18 ± 0,46 d	38,39 ± 6,90 d
	0,60	2,02 ± 0,17 d	36,42 ± 2,72 d

Media en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ).  
TCE= Tasa de Crecimiento Específico, EA=Eficiencia Alimenticia

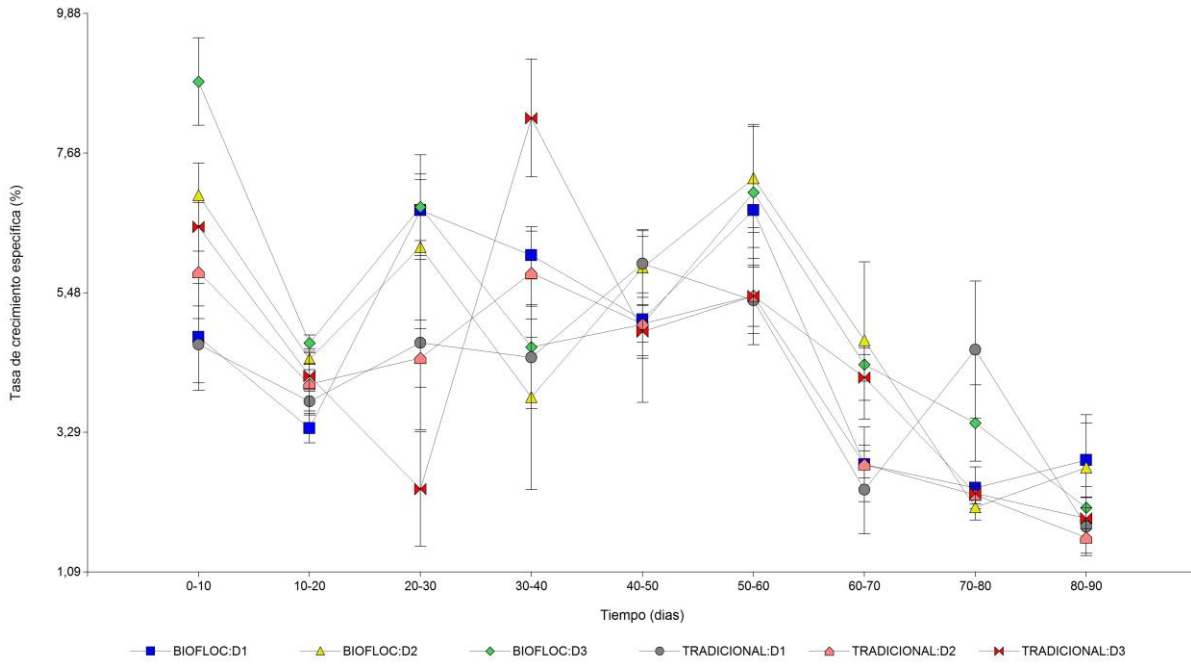
### Tabla 22

*Promedio ± error estándar de la tasa de crecimiento específico y eficiencia alimenticia de Oreochromis sp para dos sistemas de producción*

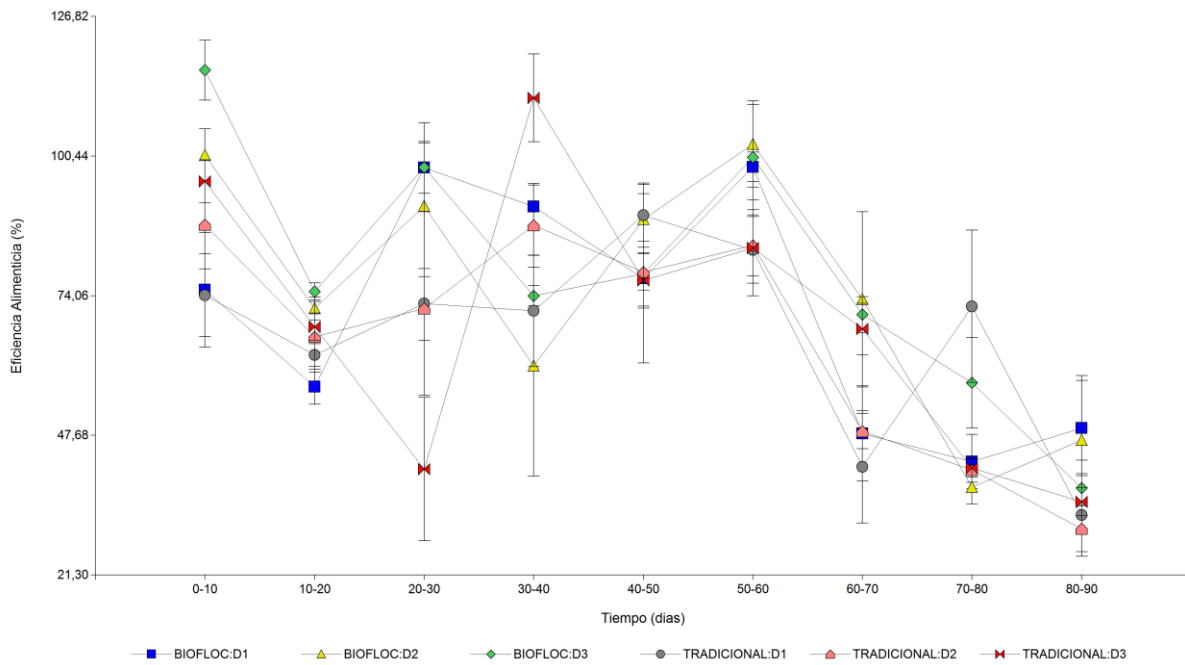
Sistema	TCE (g)	EA (%)
Tradicional	4,26 ± 0,20 b	67,21 ± 2,65 b
Biofloc	4,89 ± 0,23 a	74,75 ± 2,83 a

Media en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ).  
TCE= Tasa de Crecimiento Específico, EA=Eficiencia Alimenticia

La mayor tasa de crecimiento específico se presentó en el sistema biofloc destacando los animales que fueron alimentados con 0,60g de nucleótidos en los diez primeros días de ensayo (8,80 g/día; figura 10), mientras que en el sistema tradicional se presentó en el día 30 al 40 (8,23%; figura 10). La eficiencia alimenticia mostró el mismo comportamiento, los animales del sistema biofloc en los diez primeros días de ensayo presentaron el mayor porcentaje (116,67%; figura 11) y los peces del sistema tradicional en los días 30 al 40 (111,42%; figura 11) alimentados con 0,60g de nucleótidos.



**Figura 10** Promedio  $\pm$  error estándar de la tasa de crecimiento específico (g/día) a través del tiempo



**Figura 11** Promedio  $\pm$  error estándar de la eficiencia alimenticia (%) a través del tiempo

El factor de conversión alimenticia mostró un efecto significativo para la interacción tiempo  $\times$  sistema ( $F=3,04$ ;  $p < 0,004$ , Tabla 23). Los peces bajo el sistema Biofloc con los dos niveles de nucleótidos en dietas balanceadas al día 50-60 presentaron menor conversión alimenticia (siendo un valor favorable para conocer la cantidad de alimento necesario para producir un gramo de peso vivo).

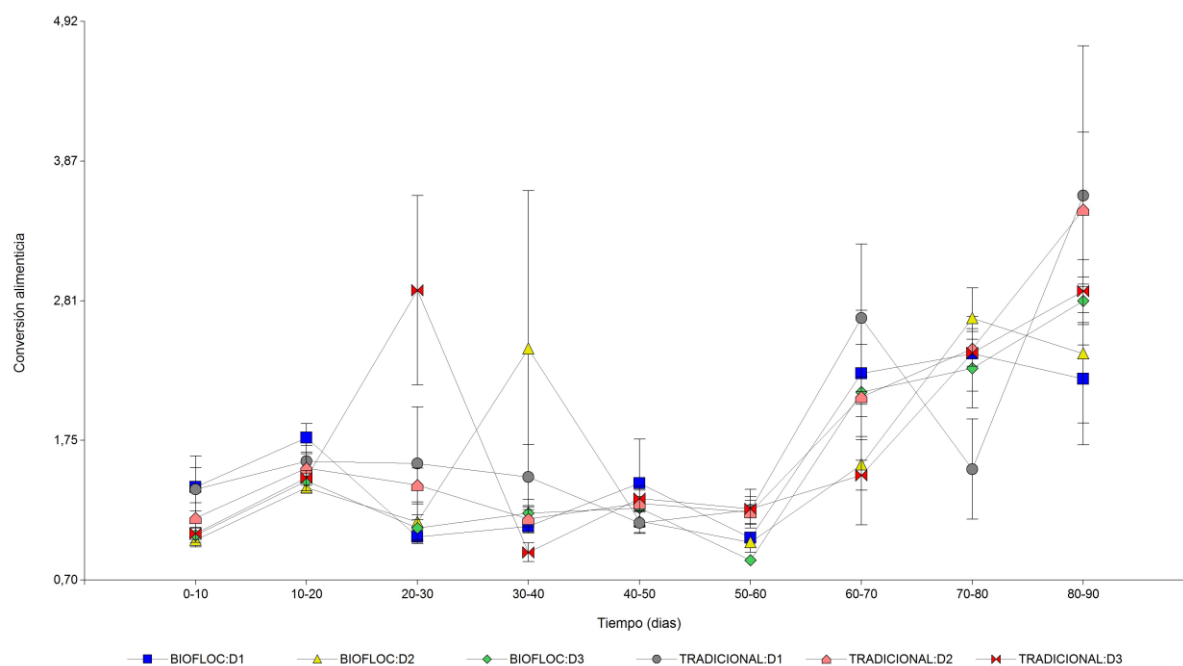
**Tabla 23**

*Promedio  $\pm$  desviación estándar del factor de conversión alimenticia de Oreochromis sp para dos sistemas de producción en 90 días*

<b>Tiempo (días)</b>	<b>Biofloc</b>	<b>Tradicional</b>
0-10	1,15 $\pm$ 0,10 b	1,20 $\pm$ 0,08 b
10-20	1,54 $\pm$ 0,07 c	1,54 $\pm$ 0,06 c
20-30	1,08 $\pm$ 0,05 b	1,96 $\pm$ 0,34 c
30-40	1,58 $\pm$ 0,41 d	1,18 $\pm$ 0,11 b
40-50	1,27 $\pm$ 0,11 b	1,24 $\pm$ 0,05 b
50-60	0,95 $\pm$ 0,04 a	1,22 $\pm$ 0,06 b
60-70	1,98 $\pm$ 0,24 d	2,08 $\pm$ 0,24 d
70-80	2,46 $\pm$ 0,15 d	2,13 $\pm$ 0,19 d
80-90	2,48 $\pm$ 0,23 d	3,33 $\pm$ 0,39 e

Medias en columnas con letra común no son significativamente diferentes (DCG;  $p < 0,05$ ). FCA= Factor de conversión alimenticia.

En la figura 12, se observó que en los días 50 al 60 los organismos bajo el sistema biofloc presentaron menor conversión alimenticia (0,85%), mientras que en el sistema tradicional al día 30 a 40 presentó el menor (0,91%), ambos sistemas fueron alimentados con 0,60g de nucleótidos.



**Figura 12** Promedio  $\pm$  error estándar del factor de conversión alimenticia a través del tiempo

#### 4.1.2.3 Productividad

La productividad no mostró un efecto significativo para la interacción dieta  $\times$  sistema ( $F = 0,04$ ;  $p = 0,9605$ ), solamente para el sistema ( $F = 9,70$ ;  $p = 0,0030$ , Tabla 24). Las tilapias bajo el sistema biofloc presentaron mayor productividad que las tilapias bajo el sistema tradicional.

**Tabla 24**

*Promedio  $\pm$  error estándar de la productividad de *Oreochromis sp* para dos sistemas de producción*

Sistema	Productividad (g/m <sup>3</sup> )
Biofloc	233,07 $\pm$ 44,74 b
Tradicional	95,95 $\pm$ 15,94 a
p-valor	< 0,05

Media en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ).

### 4.1.3 Variables de calidad de agua

#### 4.1.3.1 Variables físicas

Los parámetros físicos: temperatura, pH y total de sólidos suspendidos, presentaron diferencias significativas para los dos sistemas de producción ( $F= 421,25; p < 0,0114$ ). El oxígeno disponible no presentó diferencias significativas para los dos sistemas productivos ( $p > 0,05$ )(Tabla 25).

**Tabla 25**

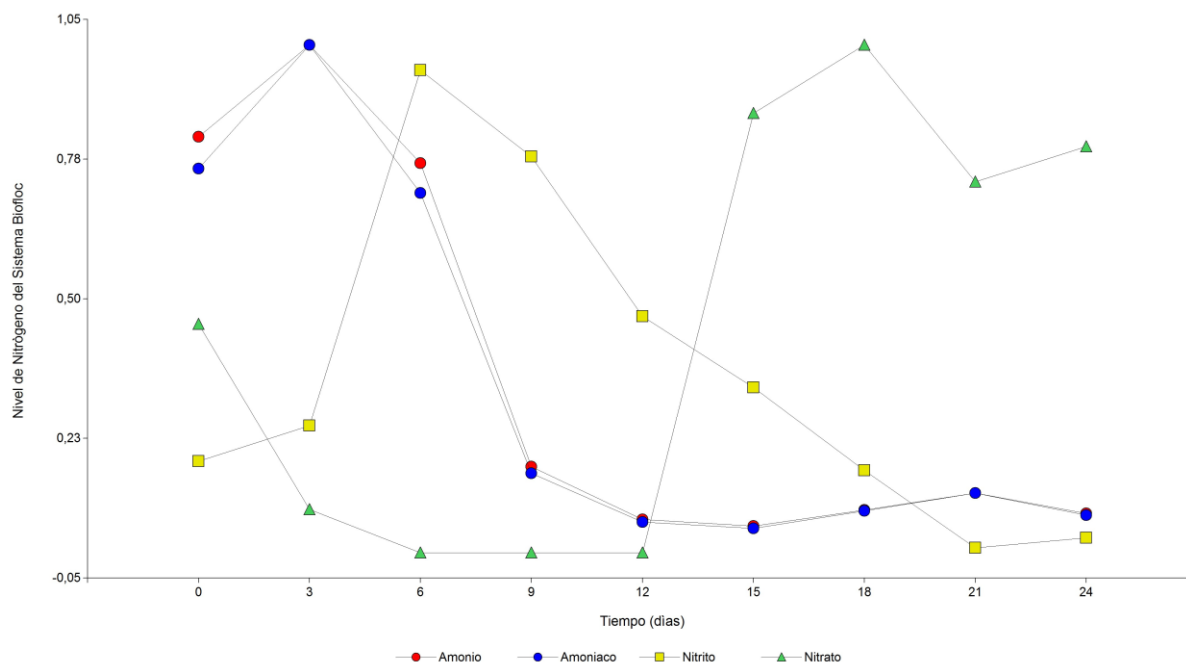
*Promedio  $\pm$  error estándar de los parámetros físicos de la calidad de agua según el sistema de producción*

<b>Sistema de Producción</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>pH</b>	<b>TSS (ppm)</b>	<b>OD (ppm)</b>
Biofloc	26,78 $\pm$ 0,19 a	7,44 $\pm$ 0,02 a	162,46 $\pm$ 6,47 a	10 $\pm$ 0,00 a
Tradicional	25,02 $\pm$ 0,18 b	7,37 $\pm$ 0,02 b	29,56 $\pm$ 0,33 b	10 $\pm$ 0,00 a
p-valor	< 0,0001	0,011	< 0,0001	> 0,05

*Nota:* Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes (DGC;  $p < 0,05$ ). TSS=total de sólidos suspendidos, OD=Oxígeno disponible.

#### 4.1.3.2 Variables químicas y microbiológicas

La figura 13, muestra el comportamiento del nitrógeno a través del tiempo, inicialmente el  $NH_4$  presentó altas concentraciones dadas por las condiciones del macrocosmos al inicio de formación, disminuyendo con el tiempo por los procesos de nitrificación. A su vez se generó incremento del  $NO_2$  que actúa según el comportamiento del  $NH_4$  y con el tiempo este disminuye por la transformación a nitrato ( $NO_3$ ); indicando que el sistema biofloc maduró a partir del día 24 a una temperatura de 26,78°C.



**Figura 13** Comportamiento de los compuestos nitrogenados en el Sistema Biofloc

Mediante medios de cultivo selectivos y específicos, se identificó bacterias existentes en ambos sistemas productivos. El medio MRS desarrolló mayor cantidad de bacterias del género *Lactobacillus* de una muestra del sistema biofloc por la adición del pro-biótico PondPlus para la maduración del mesocosmos respecto al sistema tradicional. Mientras que en los medios MK y CHA, se evidenció mayor crecimiento de bacterias patógenas de una muestra del sistema tradicional (Tabla 26).

**Tabla 26**

*Géneros bacterianos prevalentes del agua de los dos sistemas productivos identificados en medios selectivos*

	<b>Biofloc</b>	<b>Tradicional</b>
MRS	Lactobacillus (99,90%)	Lactobacillus (25,50%)
EMB	Bacillus (99,9%) Paenibacillus (87%)	Bacillus (23,2%) Paenibacillus (15,4%)
MK	Enterobacter (16%) Serratia (10,2%)	Enterobacter (99%) Kluyvera (90,1%) Serratia (90,1%)
CHA	Staphylococcus (17,80%)	Staphylococcus (89,20%)

MRS= Man, Rogosa y Sharpe; EMB= Eusina y Azul de Metileno; MK= MacConkey; CHA= Chapman

#### **4.1.4 Análisis de microbiota**

##### **4.1.4.1 Diversidad microbiana**

La secuenciación del fragmento 16S rDNA de las regiones hipervariables V3-V5 dieron como resultado la identificación promedio de 598 OTUs en las muestras analizadas con un máximo de 1037 y un mínimo de 199, valores que revelan una diferencia en la diversidad microbiana entre muestras. En el medio acuático, entre los sistemas productivos no se evidenciaron diferencias notables en la cantidad de OTUs encontrados (Tabla 27), así como en el comportamiento de las curvas de refracción en estas muestras (figura 14a), lo que indica que la aplicación de un sistema biofloc no influye en la diversidad del medio acuático.

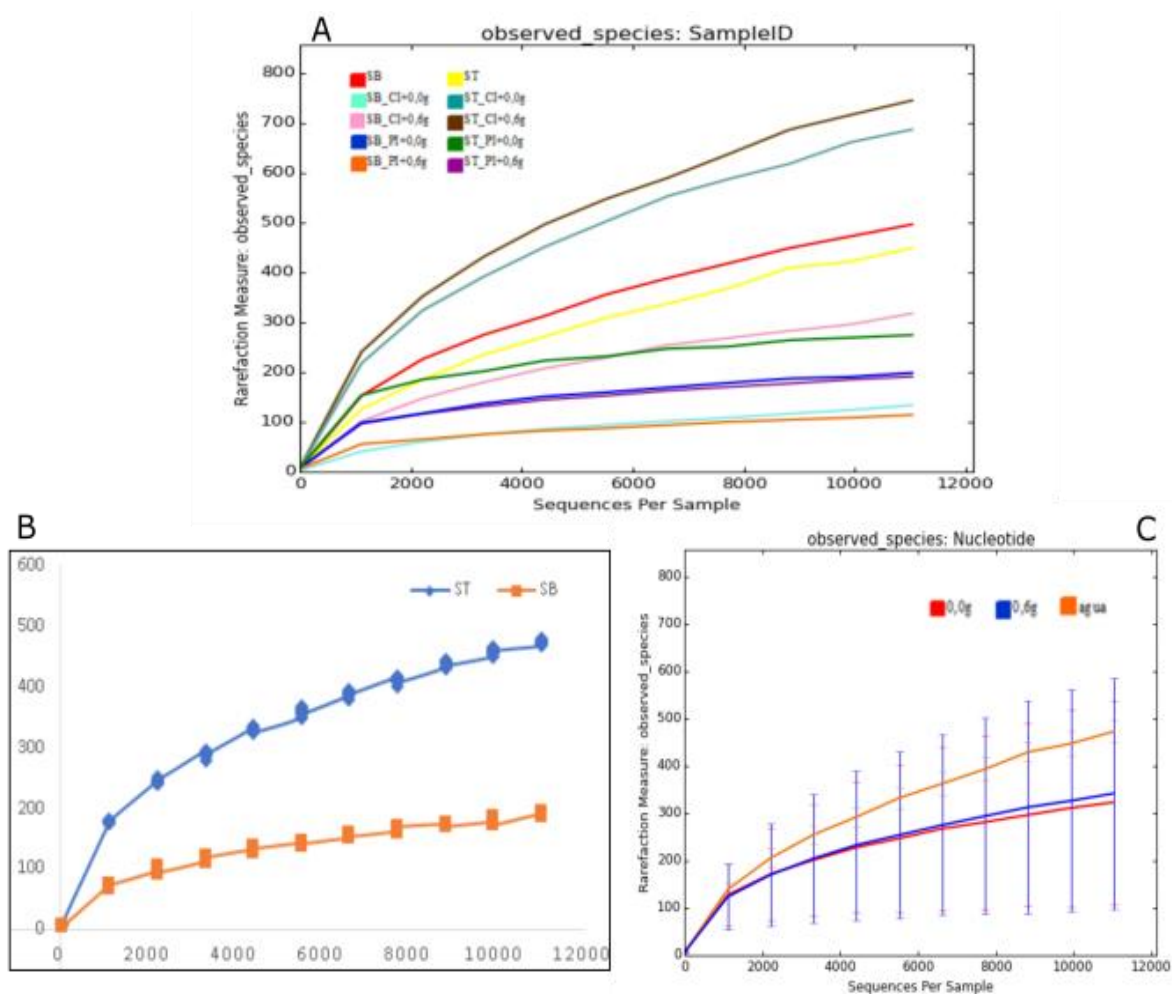
De igual manera, en las muestras biológicas que se encontraron en el sistema biofloc, mostraron un valor inferior en el número de OTUs en comparación con sus contrapartes del sistema tradicional, este efecto también fue evidente en las curvas de refracción de cada muestra, así como la curva de refracción promedio para los sistemas (figura 14b), lo que revela que la aplicación del sistema biofloc tiene un efecto en la diversidad tanto a nivel del intestino como del contenido intestinal. En cambio, la adición de nucleótido por sí solo no mostró un efecto apreciable en la diversidad microbiana, observándose un comportamiento muy similar en las curvas de refracción promedio (figura 14c), indicando que la diversidad depende de una interacción del tipo de muestra, el sistema de cultivo y la adición de nucleótidos. Las muestras con mayor diversidad tanto en el número de OTUs como en el comportamiento de las curvas de refracción son ST\_CI+0,0 y ST\_CI+0,6g.



**Tabla 27***Diversidad a nivel taxonómico de cada tratamiento*

Muestra	OTUs	Reino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especie
SB_Agua	883	99.97 %	98.65 %	97.95 %	97.12 %	95.91 %	90.85 %	55.40 %
SB_CI+0,0g	373	99.96 %	98.92 %	98.42 %	96.99 %	93.85 %	86.60 %	58.94 %
SB_CI+0,6g	620	99.97 %	98.34 %	95.64 %	93.99 %	85.34 %	65.81 %	49.89 %
SB_PI+0,0g	294	97.83 %	96.90 %	96.60 %	95.07 %	94.33 %	92.06 %	81.57 %
SB_PI+0,6g	199	99.10 %	99.05 %	98.82 %	97.82 %	97.67 %	96.10 %	90.25 %
ST_Agua	840	99.93 %	98.79 %	98.21 %	97.60 %	93.58 %	88.85 %	49.91 %
ST_CI+0,0g	916	99.99 %	97.77 %	95.79 %	92.61 %	87.86 %	78.61 %	41.74 %
ST_CI+0,6g	1,037	99.96 %	98.17 %	95.78 %	93.31 %	88.81 %	82.25 %	42.27 %
ST_PI+0,0g	536	94.98 %	93.74 %	93.19 %	91.28 %	85.57 %	81.90 %	46.30 %
ST_PI+0,6g	289	98.26 %	98.19 %	98.09 %	97.25 %	96.56 %	94.64 %	88.10 %

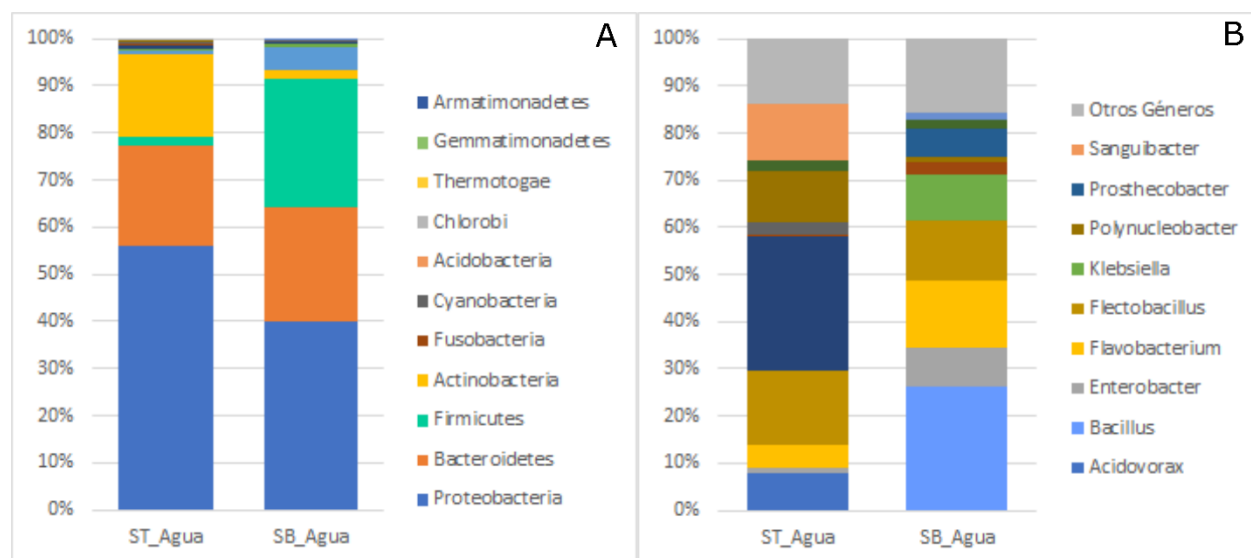
Nota: SB=sistema Biofloc, ST=sistema tradicional, CI=Contenido Intestinal, PI=porción intestinal



**Figura 14** Curvas de refracción para la diversidad microbiana: a) Todas las muestras secuenciadas. Efecto para las muestras biológicas en: b) sistemas de producción, c) Inclusión de nucleótidos

#### 4.1.4.2 Composición del Microbioma

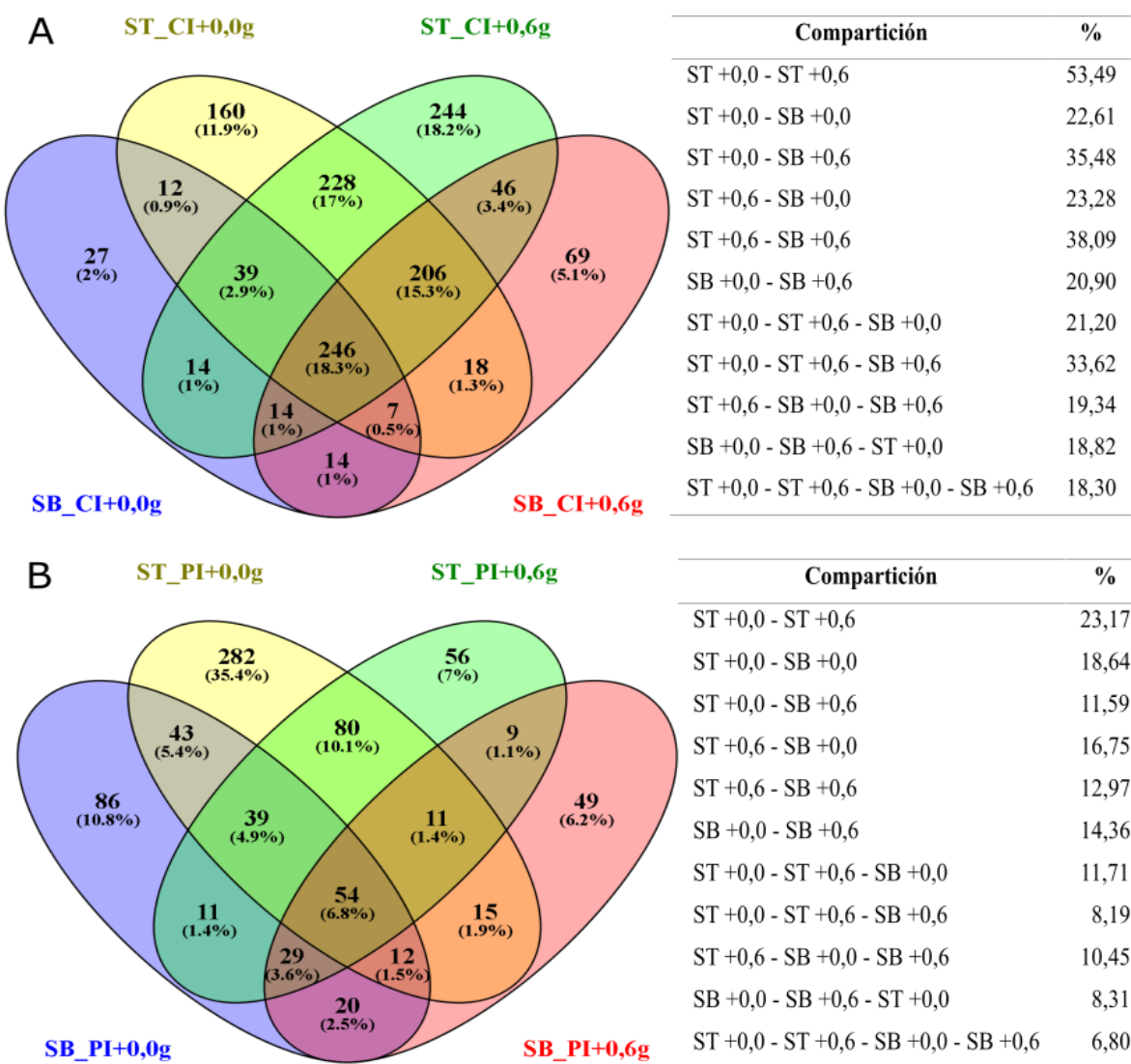
En el análisis de secuencia de la composición bacteriana de la muestra de agua del sistema biofloc se encontró una concentración superior del phylum Firmicutes por la adición de probiótico al macrocosmo en comparación con el sistema tradicional donde prácticamente no existió presencia significativa (figura 15a). El aumento de este phylum en el sistema biofloc provocó una disminución de la concentración de Proteobacterias y de manera más evidente el phylum Actinobacteria. A nivel de género, también se encontró un desbalance del microbiota del agua al incorporar un sistema biofloc, ya que se modificaron las proporciones de varios géneros y principalmente se encontró un aumento evidente de la concentración de *Bacillus*, siendo la principal fuente de aumento de Firmicutes en el medio acuático (figura 15b).



**Figura 15** Gráfico de barras de la muestra ambiental de los sistemas productivos

La utilización del sistema biofloc y/o inclusión de nucleótidos en dietas balanceadas en la producción acuícola de tilapia tuvo un efecto en la composición de especies bacterianas que se encontraban originalmente en el sistema de producción, ya que los 4 grupos de estudio compartieron solamente 18,3% (figura 16a) de especies en el contenido intestinal, mientras que este efecto fue aún más evidente en la porción intestinal con un 6,8% (figura 16b).

La incorporación de un sistema biofloc tuvo un efecto directo en la composición de especies presentes en la porción y el contenido intestinales de un sistema tradicional, encontrándose que solamente compartían el 22% y 18% de especies entre estos dos sistemas (figura 16a). La presencia de nucleótidos en la composición de especies del contenido intestinal en un sistema tradicional no presentó mayor influencia ya que comparte un 50,23%, mientras que en un sistema biofloc este efecto fue evidente ya que solamente comparte un 20% de especies. En cambio, en la porción intestinal analizada, la presencia de nucleótidos modificó el microbiota tanto en el sistema tradicional como con biofloc (ST+0,0 vs ST+0,6 = 23%; SB+0,0 vs SB+0,6 = 14%) (figura 16b).

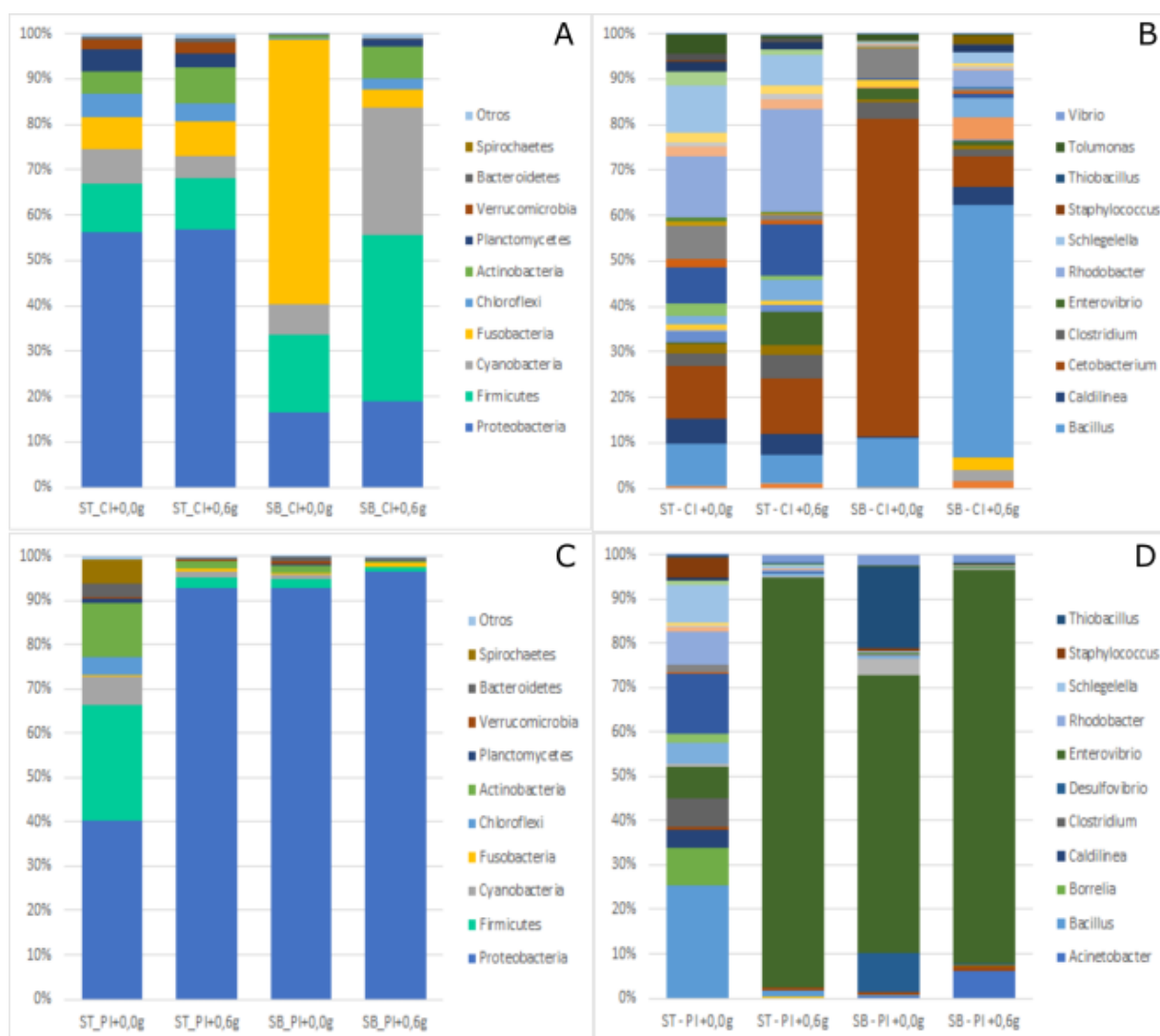


**Figura 16** Diagramas de Venn mostrando OTUs únicos y compartidos de los dos sistemas de producción en: a) Contenido intestinal, b) Porción intestinal. Los traslapes representan los OTUs obtenidos

La presencia de *Bacillus* en el contenido intestinal de las tilapias del sistema biofloc alimentadas con 0,6g de nucleótidos presentaron mayor concentración que las tilapias testigo indicando que al suministrar nucleótido influye en la diversidad bacteriana de este género (figura 17a). Otro que se presentó con abundancia fue *Cetobacterium* en la muestra del sistema biofloc sin nucleótido y en proporciones semejantes en las dos muestras del sistema

tradicional mientras que en la muestra del sistema biofloc con 0,6g de nucleótido este género presentó mínima cantidad (figura 17b).

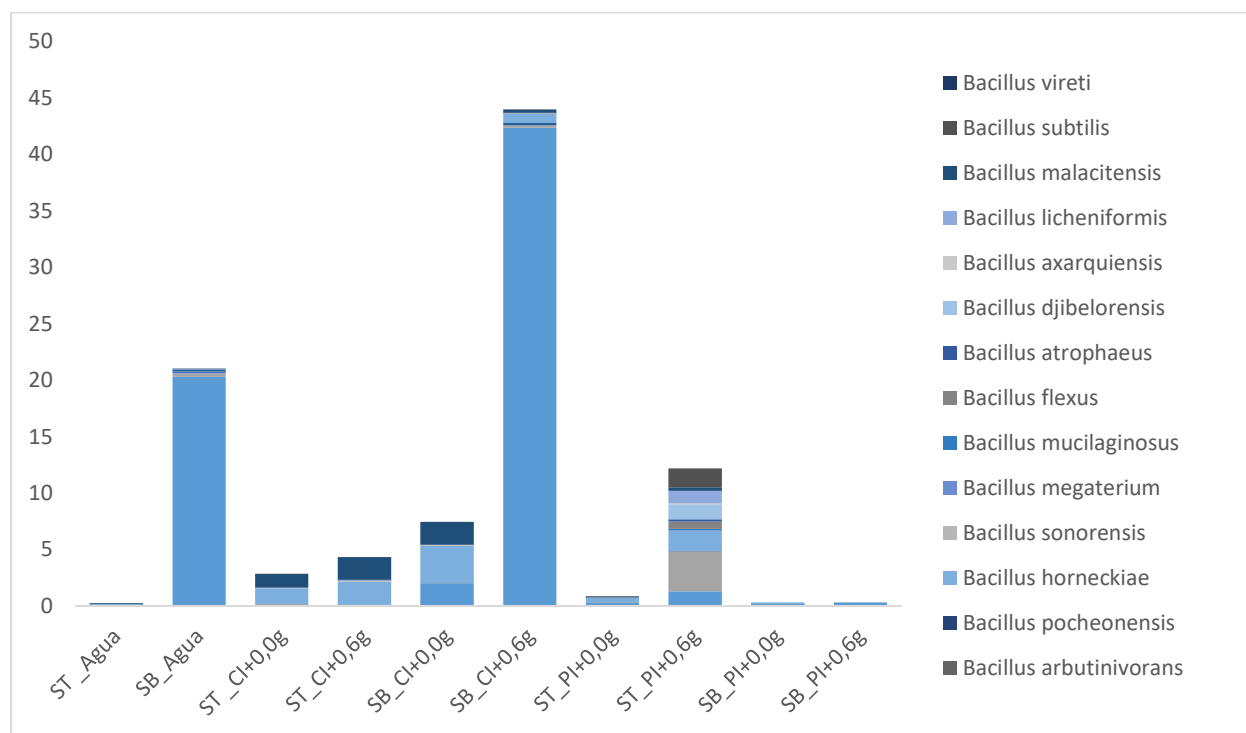
En cuanto a los resultados de la muestra de porción intestinal, se observa mayor diversidad de géneros bacterianos en la muestra sin nucleótido con mayor abundancia de *Bacillus* en comparación de la muestra con 0,6g de nucleótidos que presenta mayor abundancia del género *Enterovibrio*, ambas muestras de las tilapias cultivadas en el sistema tradicional (figura 17c). Además, en el sistema biofloc se presentó un enriquecimiento evidente de *Enterovibrio* en ambas muestras con mayor cantidad en el tratamiento con adición de nucleótido, mientras que la muestra sin nucleótido presenta mayor diversidad de género bacteriano (figura 17d).



**Figura 17** Gráfico de barras de la composición del contenido y porción intestinal con y sin inclusión de nucleótidos

En las muestras ambientales, al añadir el sistema biofloc se encontró un enriquecimiento en mayor medida del género *Bacillus* de la especie *B. funiculus*, en el contenido intestinal de las tilapias se observa la presencia de las mismas especies de *Bacillus* en cantidades semejantes; sin embargo, la presencia enriquecida de *B. funiculus* se evidenció solo en las muestras de heces del sistema biofloc, con una abundancia significativa en las tilapias alimentadas con 0,6g de nucleótidos.

La muestra de porción intestinal de las tilapias del sistema tradicional con adición de nucleótidos presentó mayor diversidad bacteriana que el resto de muestras (figura 18).

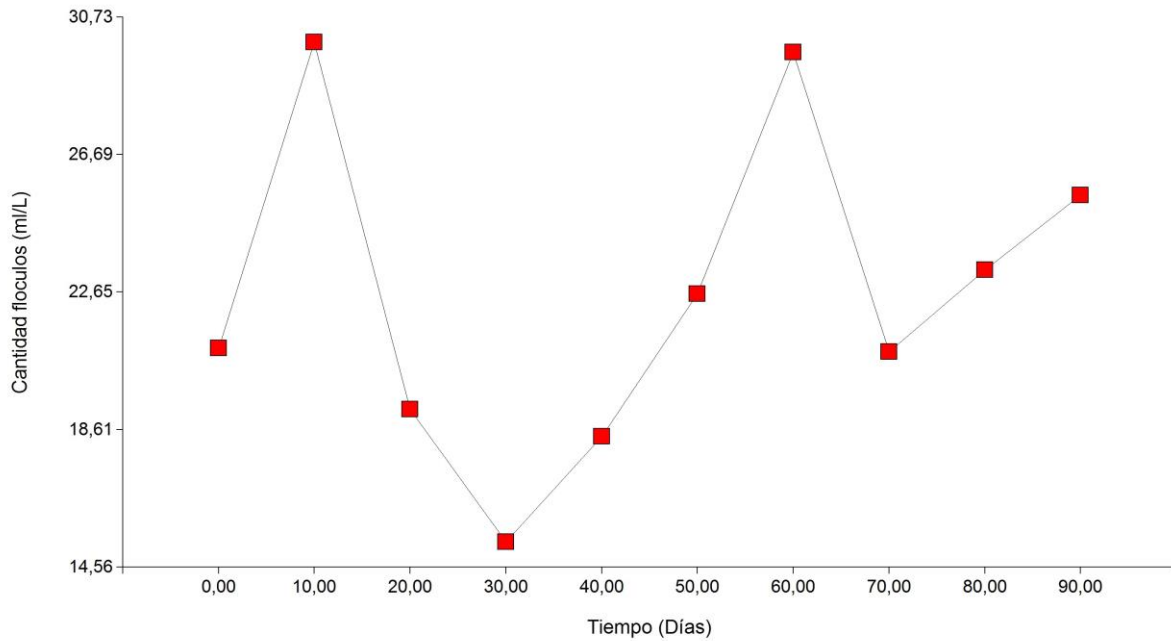


**Figura 18** Composición de las especies del género *Bacillus* en las muestras secuenciadas

#### 4.1.5 Sistema Biofloc

##### 4.1.5.1 Cantidad de bioflóculos

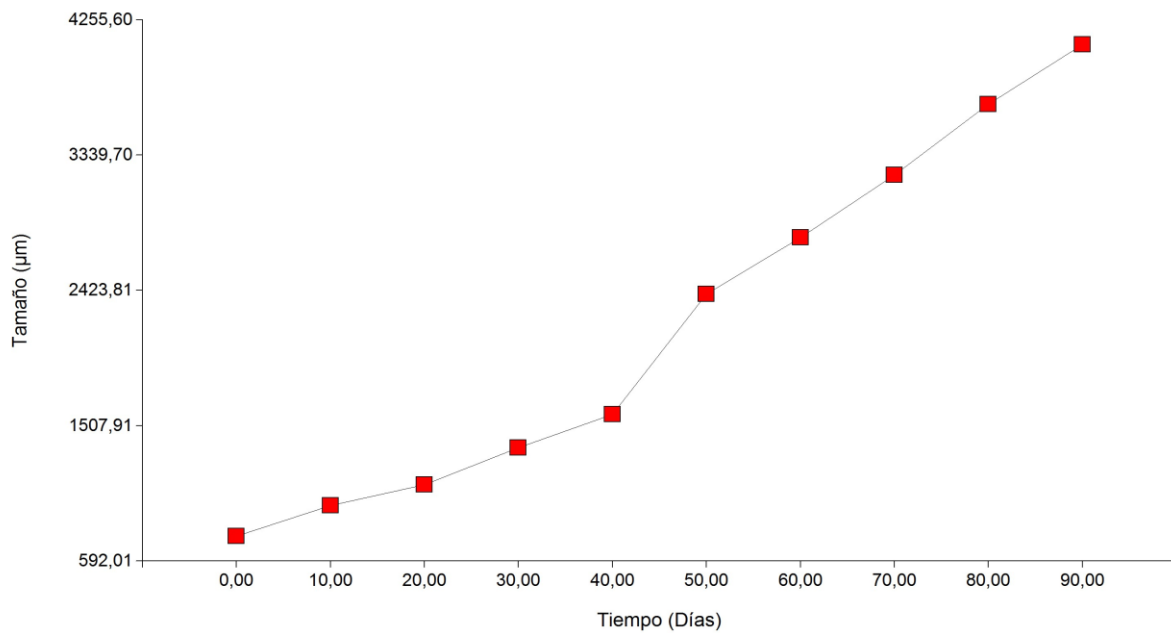
La Figura 19, muestra la cantidad variante de flóculos presentes en el sistema Biofloc post-maduración. En el día 10 y 60 se observó la mayor cantidad de flóculos, la diferencia generada fue por la carga animal y el aporte alimenticio.



**Figura 19** Cantidad de bioflóculos en el Sistema Biofloc a través del tiempo

#### 4.1.5.2 Tamaño de bioflóculos

En la figura 20, se muestra el incremento de tamaño de los bioflóculos durante el tiempo, alcanzando un tamaño de 4089,07  $\mu\text{m}$ .

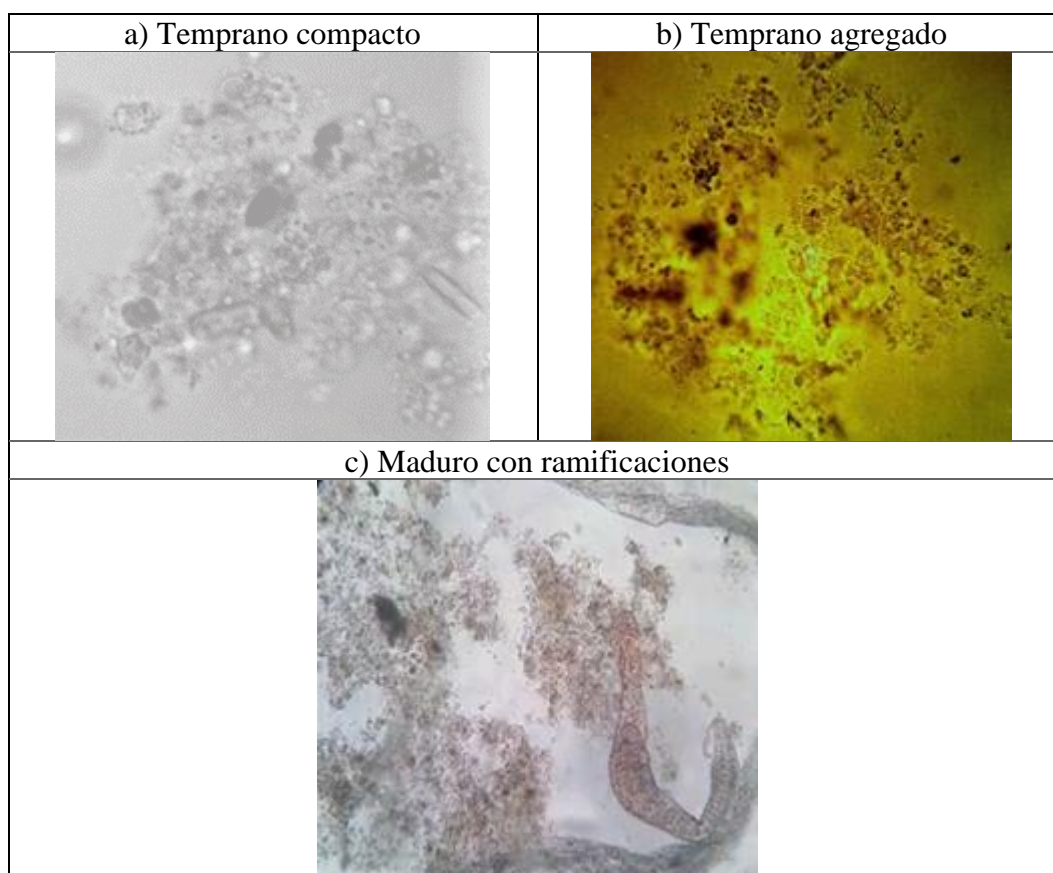


**Figura 20** Tamaño de bioflóculos del sistema biofloc a través del tiempo



#### 4.1.5.3 Estado de los bioflóculos

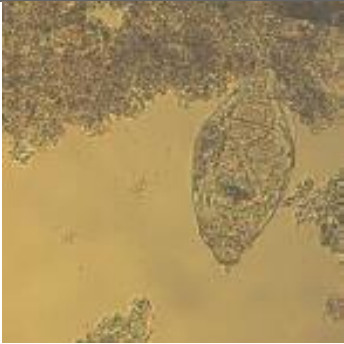

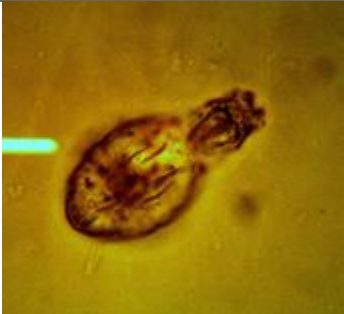




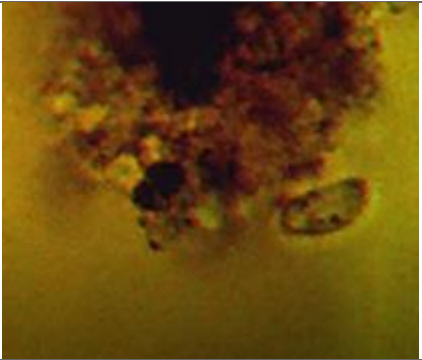
En la figura 21, se identificó las etapas de maduración de los bioflóculos presentes en el Sistema Biofloc, en tres diferentes estadíos: a) Temprano compacto b) Temprano agregado y c) Maduro con ramificaciones.



*Figura 21* Etapas de maduración de los bioflóculos

#### 4.1.5.4 Microorganismos presentes en el biofloc

Los microorganismos identificados en los bioflóculos se muestran en la figura 22, los cuales ayudan a mantener en equilibrio el sistema y a su vez agregan valor nutricional a los flóculos.

<b>Microorganismos</b>	
	
<i>Rotíferos del género Philodina</i>	<i>Paramecium caudatum</i>
	
<i>Rotíferos del género Philodina</i>	<i>Ameba del género Euglypha.</i>
	
<i>Cothurnia annulata</i>	<i>Ciliados del género Holosticha</i>
	
<i>Holosticha monilata</i>	<i>Ameba</i>

**Figura 22** Microorganismos presentes en el sistema Biofloc

## 4.2 Discusión

### 4.2.1 Parámetros métricos y productivos

Los bioflóculos, definidos como conglomerados de microbios, algas, protozoarios entre otros, junto con los detritus y las partículas orgánicas muertas generan un ecosistema rico y potente de partículas suspendidas en el agua que vienen siendo alimento aditivum para los animales (Avnimelech, et al., 2015). El valor nutricional de los bioflóculos ha sido ampliamente estudiado como lo reporta (Azim & Little, 2008), en donde se encontró niveles de 38% para proteína y 3,16 - 3,23% para lípidos utilizados en un cultivo de tilapia, mientras que (Brú-Cordero, Pertúz, Ayazo, Atencio, & Pardo, 2017) reportan valores de 31,5% para proteína, 18,3% para cenizas, 9,43% fibra y para grasas 0.67%. Estudios más específicos han revelado que los bioflóculos en acuicultura presentan cantidades considerables de aminoácidos esenciales, ácidos grasos esenciales y perfiles de vitaminas usualmente adecuados para peces (Martínez, Martínez, López, & Enríquez, 2014). Esta ventaja nutricional ayudó a las tilapias a mejorar la tasa de ingestión, digestión, absorción, FCA como lo demuestra la presente investigación.

Las variables métricas de tilapias bajo un sistema biofloc presentaron incremento de peso corporal 42,39%, largo total 16,13% y en ancho total 20,97% en comparación al sistema tradicional. En estudios similares por (Azim & Little, 2008) se ratifica los resultados del presente estudio; se evaluó tilapias con peso inicial de 99,61g cultivadas en un sistema biofloc y alimentadas con 35% y 24% de proteína, frente a un sistema tradicional con 35% de proteína, obteniendo incremento de peso corporal final de 10,35% en los peces del sistema biofloc con peso de 140,72g y 8,68% con peso de 138,56g respecto al % proteico; en comparación a los peces del sistema tradicional que presentaron 127,51g. En el estudio de

(Long, Yang, Li, Guan, & Wu, 2015) trabajaron con tilapias de 50,5g de peso inicial obteniendo un incremento corporal de 9,46 % con peso de 60,54g en el sistema biofloc y en el tradicional 146,66g de peso final. (Ekasari, et al., 2015), trabajó con 4 tratamientos (T1: biofloc a biofloc con melaza, T2: biofloc a tradicional sin melaza, T3: tradicional a biofloc con melaza y T4: tradicional a tradicional sin melaza), que consistió en transferir larvas de tilapia tomadas de reproductoras que se encontraban en un sistemas biofloc y un tradicional, el peso corporal y la longitud corporal promedio fueron 23mg -10.3mm; y 20mg - 10.0mm para las larvas del tanque de control y el tanque biofloc, respectivamente, dando como resultados que el T1 evidenció un incremento en peso corporal de 2.8%, largo total 1.01% con peso y longitud final de 108mg y 16.6mm, frente al sistema tradicional con un peso y longitud final de 105mg y 14,4mm, destacando el T3 que evidencio el mayor incremento en peso corporal 13,33%, largo total 5,48% con peso y longitud final de 119mg y 17,3mm frente al sistema tradicional, determinando que la adaptación de larvas de un sistema tradicional a biofloc es óptimo para el organismo por que mejora el estado inmune y genera mayor crecimiento, corroborando con el presente estudio.

Según (Siegel, 2011), menciona que los nucleótidos en los animales no tienen relación únicamente con el sistema inmunológico, sino que también tienen efecto positivo en el tracto gastrointestinal, potencian el efecto de vacunas, mejoran la capacidad osmoreguladora, incluyendo la codificación y desciframiento de información genética, actúan como mediadores del metabolismo energético y de señales celulares y forman parte de coenzimas, efectores alostéricos y antagonistas celulares.

Con la inclusión de 0,60g de nucleótidos en la dieta balanceada de tilapia se obtuvo 27,75% de incremento de peso corporal que corresponde a 36,64g y sin inclusión de

nucleótido se obtuvo 28,68g de peso final en los 90 días de ensayo. Siendo similar los resultados en el estudio realizado sobre el crecimiento y desarrollo de tilapia híbrida alimentada con distintas dosis (0; 0,15; 0,30; 0,60 y 1,20g por cada 100g de alimento balanceado) de nucleótidos durante ocho semanas, se obtuvo que los animales alimentados con 0,60g de nucleótido presentaron mayor incremento de peso corporal 25.29% que corresponde a 34,73g frente al control 28,66g de peso final (Xu L. , et al., 2015)

(Saavedra, 2006) reporta que el factor de conversión alimenticia (FCA) es la cantidad de alimento que debemos suministrar para que un animal produzca un kilogramo de peso vivo, los rangos óptimos son de 1,5 a 2.

El factor de conversión alimenticia (FCA) mostró valores dentro de los rangos óptimos en tilapia presentando diferencias significativas en los dos sistemas de producción, se evidenció que el biofloc no afecta negativamente la conversión alimenticia de la tilapia, ya que se obtuvo un FCA de 1,61 en tilapias cultivadas en el biofloc evidenciando la eficiencia del sistema. (Crab, Kochva, Verstraete, & Avnimelech, 2009) reportó un FCA de 2.15 en tilapia nilótica, valor obtenido por la época de invierno. Por su parte (Brú-Cordero, Pertúz, Ayazo, Atencio, & Pardo , 2017) reportó FCA de 0,9 para cachama blanca en policultivo con tilapia en sistema biofloc. Sin embargo (Wang, et al., 2015) registro valores de conversión más altos para el caso de la carpa cultivada en biofloc se observó FCA de 2,04 a 2,72.

El FCA obtenido en las tilapias alimentadas con 0,6g de nucleótidos en la dieta fue de 1,74 con EA de 69% en comparación a la dieta control que fue de 1,80 con EA de 66,57%; similar al estudio realizado por (Xu L. , et al., 2015) se obtuvo un FCA de 2,94 con EA del 76%.

Los peces del sistema biofloc registraron una TCE de 4,89%g/día, también se registran TCE para cachama blanca junto a tilapia en biofloc de 1,3 a 1,4%g/día (Chaverra, Garcia, & Pardo, 2017). Mientras que los peces alimentados con inclusión de 0,60g de nucleótidos en su dieta presentaron un TCE 4,83%g/día, además (Selim, Reda, Mahmoud, & El-Araby, 2019) uso 0,50g y registro 4,56%g/día en cultivo de tilapia.

El presente estudio reflejó que el manejo de tilapias en el sistema biofloc con inclusión de nucleótidos mostró valores favorables en las variables métricas y productivas, obteniendo una productividad de 297,45g/m<sup>3</sup>.

#### **4.2.2 Factores bióticos y abióticos (temperatura, pH, TSS, OD, amonio y nitrito, cantidad y tamaño de biofloc, microorganismos)**

La interacción entre T°C, O<sub>2</sub>, amonio (NH<sub>4</sub>), nitritos (NO<sub>2</sub>), nitratos (NO<sub>3</sub>), T°, pH, SST; es lo que hace que la calidad de agua se mantenga o no en los intervalos adecuados y su conocimiento permite saber que sucede en el taque de cultivo.

- **Temperatura:**

Esta investigación desarrollada bajo condiciones de invernadero mantuvo una temperatura promedio en los dos sistemas de producción de 25,9°C. Según (García & Calvario, 2008) menciona que la tilapia siendo termofílico puede tolerar amplios rangos de temperaturas, el rango normal oscila entre 20 a 35°C.

- **Potencial hidrógeno:**

El potencial hidrógeno en el sistema biofloc debe mantenerse entre 7 y 9, existiendo una relación inversa con los procesos de nitrificación y una relación directa con la temperatura (Avnimelech Y. L., 2011). Los resultados obtenidos muestran una mínima variación

significativa en ambos sistemas de producción encontrándose en rangos óptimos para el crecimiento de los organismos cultivados durante el ensayo. Los posibles cambios en el pH limitan la gama óptima de los microorganismos y pueden producir mortalidad (Palma L. O., 2018), ya que afecta la estabilidad de la membrana plasmática, inhiben enzimas, y alteran el transporte de solutos y la nutrición. El mantenimiento constante de pH es importante para la supervivencia de los microorganismos ya que la acidificación o alcalinización lleva a la desnaturalización de componentes vitales de la célula de estos organismos (proteínas a pH bajo y ácidos nucleicos a pH elevado) (Apella & Araujo, 2018).

- **Total de sólidos suspendidos:**

En el presente trabajo los SST aumentaron gradualmente en los 90 días de ensayo por la concentración de flóculos a partir de la aplicación del probiótico PondPlus, que son microorganismos vivos que administrados como suplemento en la dieta causan modificaciones en la microbiota asociada al tracto gastrointestinal del hospedador y generan efectos benéficos como el incremento en la conversión alimentaria, en la resistencia a enfermedades y de la calidad del agua (Villamil & Martínez, 2009). Los SST se mantuvieron en los valores recomendados por (Hargreaves, 2013) y (Avnimelech Y. , 2012) quienes mencionan que concentraciones de 200 a 500 ppm son suficientes para un buen funcionamiento del sistema, sin tener gran demanda bacteriana de oxígeno en el tanque.

El efecto de concentraciones >500 ppm de SST sobre los peces se ve reflejado en sus branquias por estar expuesto directamente al medio de cultivo y su constitución histológica los hace susceptibles a agentes adversos ya sean químicos (pesticidas) o mecánicos (SST) (Amparo, 2019). Sin embargo (Azim & Little, 2008), observó que las branquias de las tilapias

presentaron engrosamiento en los extremos distales de algunos filamentos con vasos sanguíneos dilatados en las lamelas.

- **Oxígeno:**

Un requisito indispensable para el éxito en el uso del biofloc es la aireación profusa, por una parte, para mantener en suspensión la materia orgánica que se encuentra en el medio de cultivo, y por la otra para propiciar un porcentaje de saturación de oxígeno adecuado para los organismos cultivados. El oxígeno disuelto en todos los tratamientos se mantuvo con valor de 10 mg/L. (Kubitza, 2011), sugirió que 70,5% de saturación es adecuada para cultivo comercial de tilapias en sistema biofloc. Diferentes estudios reportan que el consumo de  $O_2$  por tilapia roja, cachama blanca y cachama negra, es inversamente proporcional al peso del pez y directamente a la temperatura del agua (Collazos & Arias, 2016).

- **Amonio y Nitrito:**

En el sistema biofloc las bacterias son agentes principales en el mantenimiento de la calidad del agua y lo hacen a través de la nitrificación bacteriana (Ebeling, Timmons, & Bisogni, 2006). La nitrificación bacteriana cumple con la transformación del nitrógeno, con la condición de que metabolice carbono para generar energía y haya crecimiento de colonias bacterianas (Avnimelech, Liping, & Fitzsimmons, 2011).

La maduración del biofloc fue de cuatro semanas ya que la investigación se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero, tiempo que el NAT alcanzó 1mg/L concentración no tóxica para los peces, la máxima concentración del amoníaco se presentó al día 3 y 6 post inoculación disminuyo con el tiempo, a su vez el nitrito alcanzó al día 6 la concentración más alta teniendo un comportamiento similar al amoníaco, el nitrato a partir del día 15 fue elevando su concentración en cuanto el nitrito disminuía a través del tiempo, evidenciando el



comportamiento deseable de los compuestos nitrogenados a partir del día 21; como lo respalda (Timmons, 2002) con diferencia que la mayor concentración del amoníaco se presentó al día 14 y la concentración máxima de nitritos pasado los 28 días por motivo que el experimento se llevó a cabo en época de invierno y en campo abierto. El promedio de la temperatura fue de 26,78°C por condiciones de invernadero, lo cual aceleró el proceso de maduración del biofloc. (Fernandez, Villaverde, & Garcia, 1994), considera que es importante el papel que tiene la temperatura en la concentración y actividad de las bacterias nitrificantes debido a que en temperaturas de 28-29° alcanzan su máxima capacidad. La razón para ello es que, a temperaturas extremadamente bajas, tanto la membrana plasmática como el citoplasma microbiano pierden fluidez deteniendo el transporte de nutrientes desde el medio externo y las reacciones enzimáticas propias del metabolismo que permitirían la utilización de estos nutrientes. Por el contrario, temperaturas demasiado elevadas, inactivan sistemas enzimáticos, desnaturalizan proteínas y dañan las envolturas celulares llevando a la lisis térmica (Apella & Araujo, 2018).

- **Cantidad y tamaño de flóculos:**

Los sistemas biofloc se basan en el “Principio Básico de la Flocculación” que consiste en mantener alta cantidad de flóculos en suspensión, compuestos por poblaciones microbianas que requieren continua recirculación con elevadas cantidades de oxígeno, dados por la aireación constante de agua mediante un blower o splash que activados a corriente eléctrica tienen en movimiento las masas de agua de los estanques de producción (Ahmad, Babitha, & Verma, 2017).

Se logró alcanzar una cantidad máxima de 25,5 ml/L flóculos, este valor no fue constante dado por el bajo aporte alimenticio del 5% de su peso vivo, condición que promueve un mayor consumo de flóculos por parte de la tilapia. Según el estudio realizado por (Reinoso, 2016), en el cultivo de tilapia obtuvo 25-50ml/L siendo bajo por el mismo % de aporte alimenticio del presente trabajo. El tamaño de los flóculos es una característica importante desde un punto de vista nutricional, ya que se ha demostrado que la calidad de los alimentos para diferentes especies acuícolas depende del tamaño y contenido proteico. Según (Chaignon, Lartiges, Samrani, & Mustin, 2002), la intensidad de la recirculación del agua dada por el equipo de aireación a utilizar determina el tamaño del floc; (Benavides, 2012), menciona que la intensidad en la aireación influye no solo en el tamaño del flóculo, sino, sobre la estructura, infiriendo que la calidad de los bioflóculos se incrementa cuando la aireación y por ende las concentraciones de OD son altas en el estanque.

Los bioflóculos en este estudio llegaron a longitudes de 4089,07 $\mu$ m; en el estudio realizado por (Ekasari J. W., 2014), se tamizó los flóculos agrupándolos en 4 tamaños (sin tamizar, <48 $\mu$ m, 48–10 $\mu$ m, y >100 $\mu$ m) reportando que los flóculos <48 $\mu$ m se presentan mayor contenido de aminoácidos esenciales y son más eficientes en los procesos de recuperación de nitrógeno en comparación a los flóculos >100 $\mu$ m que son ricos en proteínas y lípidos. En otro estudio (Reinoso, 2016) obtuvo flóculos con longitudes de hasta 3000 $\mu$ m y (Avnimelech Y. , 2012) muestra longitudes de 1000-2000 $\mu$ m.

- **Microorganismos**

Los microorganismos desempeñan un papel fundamental como productores y consumidores de OD, reciclando nutrientes y produciendo alimento para la especie en cultivo.

Los microorganismos pueden ser definidos como todos aquellos organismos unicelulares: cianobacterias, bacterias, microalgas, protozoarios, rotíferos y nematodos. (Palma, Ordoñez, & Ordoñez, 2018). En general, se identificaron microorganismos bio-indicadores de la calidad de agua como: ciliados (*Paramecium*, *Holosticha*), rotíferos (*Philodina*), amebas (*Euglypha*) y nemátodos; siendo similar la presencia de microorganismos del estudio realizado por (Monroy, Lara, Castro, Castro, & Coelho, 2013).

#### 4.2.3 Análisis de Microbiota

Los resultados del análisis de microbiota indican variaciones entre las diversas comunidades bacterianas en el agua de cultivo para un sistema tradicional y un sistema biofloc en tilapia. El phylum Firmicutes se vio enriquecido en el sistema biofloc y dentro de este phylum, el género *Bacillus* fue el más predominante. Lo que concuerda con la aplicación del probiótico compuesto por un mix de *Bacillus* sp.

(De Schryver, Crab, defoirdt, Boon, & Verstraete, 2008) sugieren que los organismos acuáticos presentan relación entre el microbiota intestinal y el microbiota ambiental, (Del Duca, Cesar, Diniz, & Abreu, 2013) verifica que existe una fuerte similitud en la comunidad bacteriana existente en el intestino, agua y sedimentos del biofloc en un cultivo de tilapia; corroborando los resultados de la secuenciación en las muestras del sistema Tradicional y Biofloc en las cuales se evidenciando la presencia de los géneros *Bacillus*, *Paucibacter*, *Pseudomonas*, etc; tanto en el agua como en la porción intestinal.

La colonización de *Bacillus* en el intestino de la tilapia no es permanente, mostrando mayor abundancia de este género el contenido intestinal, indicando que estas bacterias recorren el tracto intestinal sin adherirse, se ha demostrado que en tilapia no hay una adhesión de especies probióticas en el lumen del intestino (Akhtera, Wu, Mahmood, & Mohsin, 2015).

Esta adhesión en el tracto gastrointestinal de la tilapia está directamente relacionada con la dosis de probiótico y su tiempo de ingestión (Abriouel, Franz, Omar, & Alvez, 2011). En el sistema Biofloc se evidencio la disminución en la variación genética debido al género *Bacillus*, donde (Hong & Duc, 2005) destaca las propiedades probióticas, ya que secretan una gran variedad de exoenzimas y polímeros que generan un ambiente hostil a otras bacterias. Entre los polímeros secretados, destaca el poli- $\beta$ hidroxibutirato (PHB), que es un exopolisacárido con efecto probiótico similar a los ácidos orgánicos los cuales ayudan al incremento de la productividad de especies por poseer efectos inmunoestimulantes (Sinha & Baruah, 2008).

Con respecto al sistema tradicional se evidencia similar diversidad microbiana propia del intestino de la tilapia (Standen, et al., 2015), donde se han reportado bacterias del phylum: Actinobacteria, Proteobacterias, Bacteroides, Fusobacterias, Cyanobacterias, Firmicutes, etc. (Cardona, et al., 2016) menciona que la presencia del phylum Proteobacterias en un sistema tradicional y biofloc es normal, este phylum está ampliamente disperso en ambientes acuáticos y juega un rol importante en los procesos del ciclo de nutrientes y la mineralización de compuestos orgánicos. La presencia de bacterias heterotróficas (*Bacillus*) tienen un efecto controlador sobre los patógenos, además la presencia de *Proteobacterium* no significa que estén patógenos en exceso más bien reporta en su estudio que gran parte de las proteobacterias son consideradas simbióticas en acuicultura (Zhao, et al., 2012). Lo que influyo en el desarrollo productivo de las tilapias destacando bajo un sistema biofloc con la inclusión de 0,6g de nucleótidos.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.3 Conclusiones

- El desempeño productivo de la tilapia híbrida en etapa de crecimiento bajo el sistema biofloc reportó los mejores resultados en parámetros métricos y productivos con 40,84g en peso corporal, 6,61 cm en largo total y 2,57 cm en ancho, FCA 1,61y EA 74,75%, con respecto al sistema tradicional.
- La inclusión de nucleótidos mostró efectos positivos en el comportamiento productivo. La adición de 0,60g incrementó 36,64g en peso corporal, 7,37cm en largo total y 2,33cm en ancho, FCA 1,74 y EA 69%, además las tilapias del SB+0,6g de nucleótido tuvieron la mejor respuesta ya que incrementaron los valores: 70,51g en peso corporal, 14,91cm en largo total y 5,19cm en ancho, FCA 1,57 y EA 78,68%.
- El sistema biofloc presentó valores óptimos en: parámetros físicos (26,78°C de T, 200 ppm SST, 10 ppm OD, 7,5 pH), químicos (0,8 mg/L NO<sub>3</sub>, 0,03mg/l NO<sub>2</sub> y 1mg/L NAT) y micro – biológicos (aumento de *Bacillus* sp), para la mejora del desarrollo productivo de las tilapias.
- Con el desarrollo de la investigación se generó un manual técnico operativo como material de divulgación importante, para la mejora en la producción de tilapia.

#### 5.4 Recomendaciones

- Implementar el sistema biofloc, en todas las etapas de crecimiento de *Oreochromis* sp para mejorar el rendimiento de la especie.
- Con la finalidad de optimizar la producción se recomienda realizar un análisis previo de los parámetros físicos y químicos del agua en donde se vaya a implementar un sistema biofloc.
- Para la generación de bioflóculos es importante utilizar probióticos que cuenten con bacterias identificadas molecularmente.
- Para garantizar la calidad e integridad de los bioflóculos es necesario que en la implementación del sistema biofloc cuente con acceso a energía eléctrica y fuentes alternas en caso de fallas eléctricas.
- Utilizar melaza que posea el análisis bacteriano de la misma para que no afecte el microbiota del sistema.
- Se recomienda la implementación de nucleótidos en el alimento ya que mejora el desarrollo productivo de la tilapia.
- Evaluar un sistema biofloc con diferentes fuentes de carbono para determinar diferencias en tamaños y composición nutricional de los flóculos.

## 5.5 Bibliografía

- Abdalla, E.-S., & Gad, H. (2011). Effect of chronic ammonia exposure on growth performance, serum growth hormone (GH) levels and gill histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1(4), 183-197.
- Abriouel, H., Franz, C., Omar, N., & Alvez, A. (2011). Diversity and application of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiol*, 201-232.
- Ahmad, I., Babitha, A., & Verma, A. (2017). *Biofloc technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition*. (Vol. 25). Acuacult Int.
- Akhtera, N., Wu, B., Mahmood, A., & Mohsin, M. (2015). Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 733 -741.
- Alltech. (2014). *Aquate™ Shrimp*.
- Alvarez, M., Boquet, E., & Fez, M. (1990). *Manual de técnicas de microbiología clínica*. Madrid.
- Amezquita, Y., & Barrera, R. (2017). Desarrollo de un estudio de pre factibilidad para la implementación de una granja piscícola superintensiva de tilapia roja (*Oreochromis sp*) con sistema biofloc (bft) en estanques de geomembrana para reducir el déficit en la producción piscícola en villa.
- Amparo, A. (2019). Aplicación de la tecnología biofloc (BFT) al cultivo de *Totaba macdonaldi*. *Aplicación de la tecnología biofloc (BFT) al cultivo de Totaba macdonaldi*. Ensenada, Baja California, México. Obtenido de Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada-CICESE.
- Apella, M., & Araujo, P. (2018). Microbiología de agua. Conceptos básicos. En *Solar Safe Water* (págs. 33-50). Buenos Aires, Argentina: Solar Safe Water. Obtenido de <http://www.ine.es/normativa/leyes/incinor.htm>
- Arias, J., & Collazos, L. (12 de Diciembre de 2014). *Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT)*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rovi/v19n1/v19n1a07.pdf>
- Auro de Ocampo, A., & Ocampo, L. (12 de 1999). Diagnóstico del Estrés en Peces. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 30(4), 337-334.

- Austin, B., Stuckey, L., Robertson, P., & Effendi, I. &. (1995). A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. . *Journal of Fish Diseases*, 18(1), 93-96.
- Avnimelech, De-Schryver, P., Mauricio, E., Dave, K., Andrew, R., & Nyan, T. (2015). Biofloc technology a Practical Guide Book. In *Biofloc technology a Practical Guide Book* (pp. 25-27). Louisiana. United States: The World Aquaculture Society.
- Avnimelech, P. D.-S. (2015). Using BFT to control inorganic nitrogen buildup . En Y. Avnimelech, *Biofloc tachnology a Practical Guide Book* (págs. 51-61). Louisiana. United States: The World Aquaculture Society .
- Avnimelech, Y. (2009). *Biofloc Technology – A practical Guide Book*.
- Avnimelech, Y. (2012). *Biofloc Technology - A Practical Guide Book* (2 Edition ed.). (B. Rouge, Ed.) Louisiana, United States : The World Aquaculture Society.
- Avnimelech, Y. L. (2011). *Tilapia production using biofloc technology (BFT)*. Collaborative Research Support Program.
- Avnimelech, Y., De-Schryver, P., Emmereciano, M., Kuhn, D., Ray, A., & Taw, N. (2015). Microbial processes and Communities Relevant to Aquaculture. In Y. Avnimelech, *Biofloc Technology a Practical Guide Book* (pp. 21-37). Louisiana. United States: The World Aquaculture Society.
- Avnimelech, Y., Liping, L., & Fitzsimmons, K. (2011). Tilapia production using biofloc technology (BFT). *Auafish*, 359-361.
- Azim, M., & Little, D. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition,. *Aquaculture*, 29 - 35.
- Azim, M., & Little, D. (2008). The biofloc tecnology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 1-4(283), 29-35.
- Barandica, L., & Tort, L. (2008). NEUROENDOCRINOLOGÍA E INMUNOLOGÍA DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS EN PECES. *Revista de la academia Colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales*, 32(123), 267-284.
- Barrera, D., & Barros, L. (Diciembre de 2018). *Evaluacion de nucleotidos en la produccion intensiva de trucha arcoiris en etapa de crecieminto con aereacion tipo "Airlift"*. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/15869/1/T-IASA%20I-005473.pdf>
- Belman, A. (1999). Efectos de inclusion de una mezcla prebiotica sobre el comportamiento productivo y la flora bacteriana en la tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). *Tesis de Licenciatura*, 1-41.



- Benavides, L. &. (2012). *Evaluación del efecto del Biofloc en la producción de alevinos de cachama blanca (Piaractus brachypomus) en condiciones de laboratorio*. Pasto, Colombia: Tesis de Pregrado. Programa de Ingeniería en Producción Acuicóla, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño.
- Boyd, C. E. (13 de Febrero de 1998). Pond water aeration systems. *Elsevier- Department of Fisheries and Allied Aquacultures*, 18, 9-40.
- Britania, L. (Noviembre de 2015). *Laboratorios Britania S.A.* Obtenido de <https://www.britanialab.com/home>
- Brú-Cordero, S., Pertúz, V., Ayazo, J., Atencio, V., & Pardo, S. (Abril de 2017). Bicultivo en biofloc de cachama blanca -piaractus brachypomus y tilapia nilótica -oreochromis niloticus- alimentadas con dietas de origen vegetal. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 64(1), 44 - 60.
- Cabrera, T., Millán, J., & Rengel, J. R. (2001). Cultivo del híbrido de tilapia en un ambiente marino, sustituyendo harinas de pescado por soya. *Ciencia Pesquera No. 15*.
- Cardona, E., Gueguen, Y., Magré, K., Lorgeoux, B., Piquemal, D., Pierrta, F., . . . Saulnier, D. (2016). Bacterial community characterization of water and intestine of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system. *BMC Microbiology*, 2-9.
- Chaignon, V., Lartiges, B., Samrani, E., & Mustin, C. (2002). Evolution of size distribution and transfer of mineral particles between flocs in activated sludges: an insight into flocs exchange dynamics. *Water Res*(36), 676-684.
- Chaverra, S., Garcia, J., & Pardo, S. (2017). Biofloc effect on juveniles Cachama Blanca *Piaractus brachypomus* growth parameters. *CES Medicina Veterinaria Zootecnia*, 12(3), 170-180.
- Chávez, B., Vega, & Toledo, M. (2016). *World Aquaculture Society Meetings*. Obtenido de World Aquaculture Society Meetings: <https://www.was.org/meetings/ShowAbstract.aspx?Id=44406>
- Collazos, L., & Arias, J. (2016). *Aspectos técnicos cruciales de la tecnología biofloc-tbf, para la producción intensiva en piscicultura*. Colombia.
- Collazos, L., & Arias, J. (2016). *Crucial technical aspects of biofloc technology - bft, for the intense production of fish farming*. Villavicencio - Meta, Colombia.: Grupo de Investigación en Sistemas de Producción en Acuicultura, SPA.
- Crab, R., Kochva, M., Verstraete, W., & Avnimelech, Y. (May de 2009). Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquacultural Engineering*, 105 - 112. doi:10.1016/j.aquaeng.2008.12.004

- De Schryver, P., Crab, R., defoirdt, T., Boon, N., & Verstraete, W. (2008). The basics of bioflocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture*, 125-137.
- Del Duca, A., Cesar, D., Diniz, C., & Abreu, P. (2013). Evaluation of the presence and efficiency of potential probiotic bacteria in the gut tilapia *Oreochromis niloticus* using the fluorescent in situ hybridization technique. *Aquaculture* , 308-391.
- Di-Rienzo, J. (2008). Infostat.
- Ebeling, J., & Timmons, M. (2010). *Recirculating Aquaculture Systems* (Vol. 401). Itaca: NRAC.
- Ebeling, J., Timmons, M., & Bisogni, J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture in aquaculture production systems. *Aquaculture*(257), 346-580.
- Ekasari, J. W. (2014). The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. . *Aquac Res* , 426-427: 105-111.
- Ekasari, J., Rivandi, D. R., Firdausi, A., Surawidjaja, E., Zairin, M., Bossier, P., & De-Schryver, P. (2015). Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture*, 72-77.
- Emerson, K., Russo, R., L. R., & Thurston, R. (1975). Aqueous Ammonia Equilibrium Calculations: Effect of pH and Temperature. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 2379-2383.
- ESPAE-ESPOL. (2018). Industria de acuicultura. Obtenido de [http://www.espae.espol.edu.ec/wp-content/uploads/2018/01/ei\\_acuicultura.pdf](http://www.espae.espol.edu.ec/wp-content/uploads/2018/01/ei_acuicultura.pdf)
- FAO. (2018). Estadísticas de pesca y acuicultura 2016. Obtenido de <http://www.fao.org/3/i9942t/I9942T.pdf>
- FAO, OPS, WFT, & UNICEF. (9 de Julio de 2018). Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el caribe 2018.
- Fernandez, F., Villaverde, S., & Garcia, P. (1994). Temperature effect on nitrifying bacteria activity in biofilters: Activation and free ammonia inhibition. *Water Science and Technology*, 30, 121-130. doi:10.2166/wst.1994.0552
- Galvez, F. (7 de Mayo de 2009). Ácidos nucleicos. *Universidad politecnica de valencia*.
- García, A., & Calvario, O. (2008). *Manual de buenas prácticas de producción acuícola de tilapia*. México.
- Guamán, Y. (18 de Mayo de 2017). *Estimación de la Demanda de Importación de Tilapia para U.S y la importación económica para Ecuador*. Obtenido de <http://repositorio.usfq.edu.ec/jspui/bitstream/23000/6455/1/131737.pdf>

- Hargreaves, J. (2006). *Photosynthetic suspended-growth systems Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. Aquaculture Engineering* (Vol. 34).
- Hargreaves, J. (2013). Biofloc Production Systems for Aquaculture. *SRAC*, 45(3), 1-12.
- Hernandez, L., Londoño, J., & Hernandez, K. &. (2019). The Biofloc systems: An efficient strategy in the aquaculture production. *Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 14(1), 70-99.
- Hong, H., & Duc, L. &. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. *Microbiology Reviews*(29), 813-835.
- IIAP, & GEF/PNUD. (1999). *Piscicultura amazonica con especies nativas*. Obtenido de <http://www4.congreso.gob.pe/comisiones/1999/ciencia/cd/iiap/iiap1/TEXT0.htm>
- Incopesca. (2018). Sistemas de Cultivo de Tilapia. *El Productor*. Obtenido de <http://elproductor.com/articulos-tecnicos/articulos-tecnicos-acuicolas/sistemas-de-cultivo-de-tilapia/>
- Keong, W., & Romano, N. (Septiembre de 2012). *A review of the nutrition and feeding management offarmed tilapia throughout the culture cycle*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/259555472\\_A\\_review\\_of\\_the\\_nutrition\\_and\\_feeding\\_management\\_of\\_farmed\\_tilapia\\_throughout\\_the\\_culture\\_cycle](https://www.researchgate.net/publication/259555472_A_review_of_the_nutrition_and_feeding_management_of_farmed_tilapia_throughout_the_culture_cycle)
- Kubitza, F. (2011). CULTIVO DE TILAPIAS EN SISTEMA DE “BIOFLOCOS”, SIN RENOVACION DE agua. *Panorama de Acuicultura*, 21(125), 14-23.
- Lane, D. P. (1981). Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences.
- Lima, U., Rocha, D., Nogueira, M., & Souza, E. (2017). Carbon sources and c:n ratios on water quality for nile tilapia farming in biofloc system. *Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação*. Obtenido de <http://www.scielo.br/pdf/rcaat/v30n4/1983-2125-rcaat-30-04-01017.pdf>
- Llanes, J., Toledo, J., & Vega, J. L. (2006). Producción de alimento húmedo a partir de ensilados de pescado para la alimentación de Tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*). *AquaTIC*.
- Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., & Wu, F. (2015). Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 135-141.
- Lubel, A., Reyes, M., & Olvera, J. (2009). *Diversidad de los protozoos ciliados*.
- Maeda, A. (16 de Enero de 2017). Biofloc reduce en 50% costos de producción de tilapia. *Acuicultura Sustentable para el desarrollo social y sin fronteras*. Obtenido de <https://www.aquahoy.com/noticias/peces/28260-biofloc-reduce-en-50-costos-de-produccion-de-tilapia>

- Mantilla, L. (2018). Efecto de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* spp y *Paracoccus* sp en la producción de Tilapia Híbrida (*Oreochromis* sp.) en la zona de Nanegal. Sangolqui, Ecuador.
- Martínez, L., Martínez, M., López, J., & Enríquez, L. (26 de Septiembre de 2014). Uso de microorganismos en el cultivo de crustáceos. *Biotecnia*, 1-6. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/288425636\\_USO\\_DE\\_MICROORGANISMOS\\_EN\\_EL\\_CULTIVO\\_DE\\_CRUSTACEOS](https://www.researchgate.net/publication/288425636_USO_DE_MICROORGANISMOS_EN_EL_CULTIVO_DE_CRUSTACEOS)
- Monroy, M., Andrade, R., Mejia, J., & Mejia, G. &. (diciembre de 2013). Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en el cultivo de tilapia. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 48(3), 511-520. doi:10.4067/S0718-19572013000300009
- Monroy, M., Lara, R., Castro, J., Castro, G., & Coelho, M. (Diciembre de 2013). Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 3(48), 511-520. doi:10.4067/S0718-19572013000300009
- National Research Council, N. (1983). Nutrient requirements of warm water fishes and shellfishes. *National Academy Press*, 102.
- Ortiz, J. (Junio de 2015). *Acuicultura*. Obtenido de Producción dulce Acuicola del Ecuador 1: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/10164/3/Acuicultura.pdf>
- Palma, L. O. (2018). *Aplicación de la técnica de Biofloc, usando sustratos naturales, y Probióticos en el cultivo de Oreochromis sp en sistema de cero recambios de agua*. Choluteca, Honduras .
- Palma, L., Ordoñez, K., & Ordoñez , A. (Mayo de 2018). *Aplicación de la técnica de Biofloc, usando sustratos naturales, y Probióticos en el cultivo de Oreochromis sp en sistema de cero recambios de agua*.
- Palma, L., Ordoñez, K., & Ordoñez, A. (mayo de 2018). *Aplicación de la técnica de Biofloc, usando sustratos naturales y Probióticos en el cultivo de Oreochromis sp en sistema de cero recambios de agua*. Obtenido de Carrera de Ingeniería en Ciencias Acuicolas y Recursos Marinos Costeros.
- Peng, L., & Delbert, M. (28 de febrero de 2006). Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. *Aquaculture*, 141-152. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848605000396?via%3Dihub>
- Rakocy, J. (18 de Febrero de 2005). *Programa de información de especies acuáticas Oreochromis nitloticus*.

- Reinoso, S. (2016). *Desempeño productivo del policultivo de Oreochromys sp. y Macrobrachium rosenbergii bajo un sistema tipo Biofloc* .
- Riesenfeld, C. S. (2004). Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *38*, 525-552.
- Ringo, E., & Olsen, R. (2003). Electron microscopy of the intestinal microflora. *Aquaculture*, *227*, 395-415.
- Rudolph, F. (1994). The Biochemistry and Physiology of Nucleotides. *Symposium: Nucleotides and Nutrition*, 124 -127.
- Ruppert, & Barnes. (1996). *Zoología d elos invertebrados*.
- Saavedra, M. (2006). *Manejo del cultivo de tilapia* .
- Sakata, T., & Kakimoto, D. (1984). Dominant bacteria of the aerobic microflora in tilapia intestine. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, *50*, 489-493.
- Santos, E. (2017). PYSIOLOGICAL RESPONSES OF FISHES SUBJECT TO STRESS. *Universidad de la laguna*, 3-22.
- Schweitzer, R., Arantes, R., Fóes, P., & Do-Espírito, C. (30 de Abril de 2013). Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Elsevier B.V*, *56*:59–70. doi:10.1016/j.aquaeng.2013.04.006
- Selim, K., Reda, R., Mahmoud, R., & El-Araby, I. (2019). Effects of nucleotides supplemented diets on growth performance and expressions of ghrelin and insulin-like growth factor genes in Nile tilapia. *Journal of Applied Aquaculture*, 1-19.
- Seyle, H. (1963). *Stress in health and disease*. Londres, Reino unido: Butterworths.
- Siegel. (2011). *Evaluación de dietas suplementadas con combinaciones de nucleótidos, microminerales orgánicos (Se y Zn) y vitamina C, mediante desafío con el virus de la Anemia Infecciosa del Salmón del Atlántico (Salmo salar)*. Obtenido de Universidad Austral de Chile: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2011/fvs571e/doc/fvs571e.pdf>
- Sinha, A., & Baruah, K. &. (2008). Horizon scanning: the potential use of biofloc as an anti-infective strategy in aquaculture -an overview. *Aquaculture Health International*(13), 8-10.
- Standen, B., Rodiles, A., Peggs, D., Davies, S., Santos, G., & Merifield, D. (2015, Mayo). Modulation of the intestinal microbiota and morphology pf tilapia, *Oreochromis niloticus*, following the application of a multi-species probiotic. *Appl Microbial Biotechnol*.

- Talbot, C. (1985). *Fish energetics new perspectives*. Londres, Reino unido: Peter Tytler and Peter Calow. doi:10.1007/978-94-011-7918-8\_5
- Timmons, M. E. (2002). Recirculating aquaculture systems . *Northeastern Regional Aquaculture Center* .
- Torres, D., & Hurtado, V. (09 de marzo de 2012). *Requerimientos nutricionales para Tilapia del Nilo (Oreochromis niloticus)*.
- Tort, L. (2011). Stress and immune modulation in fish. *Elsevier*, 1367-1370.
- Tsang, S., & Quintanilla, M. (2008). *Manual sobre reproducción y cultivo de tilapia*. El salvador.
- Vargas, F., & Hernández, J. (10 de Octubre de 2003). A microplate technique to quantify nutrients (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) in seawater. *Aquaculture*, 34, 1201-1204. doi:0.1046/j.1365-2109.2003.00928.x
- Vargas, F., & Martínez, M. (06 de 07 de 2015). Microbial metagenomics in aquaculture: a potential tool for a deeper insight into the activity. *Reviews in Aquaculture*, 9(1), 42-56. doi:https://doi.org/10.1111/raq.12102
- Vazquez, R., Vargas, F., & Martínez, L. &. (2017). Metagenomica como herramienta para el estudio de comunidaes microbianas en diversas disciplinas agropecuarias. *Microbiologia ambiental en Mexico*.
- Vázquez, R., Vargas, L., Martínez, R., & Martínez, M. (s.f.). Metagenómica como herramienta para el estudio de comunidades microbianas en diversas disciplinas agropecuarias. En M. Arena, & X. Chiappa, *Microbiología ambiental en México*.
- Villamil, L., & Martínez, M. (2009). PROBIÓTICOS COMO HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA EN EL CULTIVO DE CAMARON. *Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR* , 38(2), 165-187.
- Wang, G., Yu, E., Xie, J., Yu, D., Li, Z., & Luo, W. (2015). Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*. *Aqua Res*, 98-104.
- Wegley, L. E. (2007). Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral *Porites astreoides*. *Environmental Microbiology*, 9, 2707-2719.
- Wendelaar, S. (1997). The stress response in fish. *American Physiological Society*, 77(3), 591-625. doi:doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591
- Wooley, J. G. (2010). *A primer on metagenomics*. PLoS ONE 6:e1000667.
- Xu, L., Ran, C., He, S., Zhang, J., Hu, J., Yang, Y., . . . Zhou, Z. (2015). *Animal Nutrition*, 244 - 255.

- Xu, L., Ran, C., He, S., Zhang, J., Hu, J., Yang, Y., . . . Zhou, Z. (2015). Effects of dietary yeast nucleotides on growth, non-specific immunity, intestine growth and intestinal microbiota of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*. *Animal Nutrition*, 1, 244–251. doi:10.1016/j.aninu.2015.08.006
- Zapata, K., Brito, L., Lima, P., Vintea, L., Galvez, A., & Vargas, J. (2017, Junio 06). *Cultivo de Alevines de tilapia en sistema biofloc bajo diferentes relaciones carbono/nitrógeno*. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/320119882\\_Cultivo\\_de\\_alevines\\_de\\_tilapia\\_en\\_sistema\\_biofloc\\_bajo\\_diferentes\\_relaciones\\_carbononitrogeno](https://www.researchgate.net/publication/320119882_Cultivo_de_alevines_de_tilapia_en_sistema_biofloc_bajo_diferentes_relaciones_carbononitrogeno)
- Zhao, P., Huang, J., Wang, X., Song, X., Yang, C., Zhang, X., & Wang, G. (2012). The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, 97 - 106.