

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA ELABORACIÓN DE UN ARTÍCULO COMO MODALIDAD DE GRADUACIÓN TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE: MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TEMA

Evaluación del biofloc con especies nativas en cultivos de tilapias (*Oreochromis sp.*) antes de implementar en las zonas rurales.

Autor

Jonathan Josué Proaño Morales

Tutor

Teresa Eulalia Ibarra Mayorga

Revisor

José Elvis Robles García

Fecha

Septiembre del 2017

Santa Ana- Manabí- Ecuador

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado a Jehová nuestro padre que ha permitido nuestra existencia manifestando su gloria y bondad en la belleza de las cosas, a la vez que me deja ver su funcionamiento y así poder entendedor la existencia; también dedico este trabajo a mis padres que siempre están apoyándome y dándome ánimo para seguir en la trayectoria del camino de mi realidad.

Agradecimientos

Al padre eterno por ser mi guía en este camino de mi existencia, a mis padres por la formación y apoyo que me han suministrado desde los pasos de la infancia hasta la actualidad, a mis amigos por los consejos, a la Universidad por ser la que me brindó información para un mejor entendimiento.

CERTIFICACIÓN DE LA TUTORA DE TESIS

YO: TERESA EULALIA IBARRA MAYORGA DOCENTE DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ DE LA PROVINCIA DE MANABÍ, CANTÓN SANTA ANA, EN MI CALIDAD DE TUTORA CERTIFICO QUE:

He revisado e articulo académico titulado "Evaluación del biofloc con especies nativas en cultivos de tilapias (Oreochromis sp.) antes de implementar en las zonas rurales" la misma que ha sido elaborada y presentada por el estudiante Jonathan Josué Proafio Morales, la cual cumple con los requisitos técnico y legales exigió por Universidad Técnica de Manabí para este tipo de estudios.

Santa Ana, agosto del 2017

Biol. Eulalia Ibarra Mayorga MSc.

Tutora del artículo académico

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ **FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ARTICULO ACADÉMICO

Tema

Evaluación del biofloc con especies nativas en cultivos de tilapias antes de implementar en las zonas rurales.

Sometida a la consideración del Tribunal de Defensa del trabajo y legalizada por el Honorable Consejo Directivo como requisito previo para la obtención del título de:

Médico	Veterinario	У	Z00	tecn	sta
				,	1

Aprobación

SE GUERRERO CAZADO PhD. DR. EDIS MACIAS RODRIG

DECANO (E) FCVZ

BIOL JUAN JOSE BERNAL, MgS.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

filming from V. LIC. PATRICIO PANTA MgS.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

BIOL. EULALIA IBARRA MAYORGA MSc. DR. ELVIS ROBLES GARCIA MgS.

REVISOR

TUTOR

AB. DANIEL CADENA MACIAS

SECRETARIO ASESOR JURÍDICO (E)

Declaración sobre derechos de autor

Este trabajo es original e inédito, ninguno de los datos presentados en este trabajo ha sido plagiado, inventado, manipulado o distorsionado por parte de los autores ya que en este caso se comparte los derechos de publicaciones con la Universidad Técnica de Manabí.

Se identifican y citan las fuentes originales en las que se basa la información contenida en el manuscrito, así como las teorías y los datos procedentes de otros trabajos previamente publicados.

Se cita adecuadamente en el artículo la procedencia de las figuras, tablas, datos, fotografías, etc.

Jonathan Josué Proaño Morales

Índice

. F	Resu	ımen de la elaboración del artículo	1
I. A	Abst	ract of article elaboration	3
II.	Art	tículo elaborado	5
1. (<i>Ord</i>		uluación del biofloc con especies nativas en cultivos de tilapias aromis sp.) antes de implementar en las zonas rurales	5
2.		sumen	
3.		abras claveabras clave	
4.		stract	
- . 5.		/words	
6.		roducción	
7.		todología	
7	'.1	Primera etapa	
7	.2	Segunda etapa	8
7	.3	Recolección de los organismos de vida libre	
7	.4	Tercera etapa	9
7	.5	Cuarta etapa	<u>c</u>
7	.6	Datos obtenidos durante todo el proceso de observación	10
8.	Res	sultados	12
8	.1	Primera etapa	12
8	.2	Segunda etapa	12
8	.3	Tercera etapa	12
8	.4	Cuarta etapa	12
8	.5	Mortalidad	13
8	.6	Observación de poblaciones	13
8	.7	Parámetros ambientales (Temperatura, DO y pH)	14
8	8.8	Correlación de Pearson y coeficiente de determinación entre el	
У	el a	alimento suministrado	14
8	.9	Otros resultados.	15
9.	Dis	cusión	15
10.	c	Conclusiones	18
11.	R	Recomendación	19
12.	Δ	Agradecimiento	19
13.	R	Referencias bibliográficas	20
14.	Δ	Anexos	24

14.1 Fotografías del artículo "Evaluación del biofloc co	n especies nativas
en cultivos de Oreochromis sp. antes de implementar e	n las zonas rurales".
24	
14.2 Figuras "Evaluación del biofloc con especies nativ	vas en cultivos de
Oreochromis sp. antes de implementar en las zonas rui	ales" 28
14.3 Tablas del artículo "Evaluación del biofloc con es	pecies nativas en
cultivos de Oreochromis sp. antes de implementar en la	is zonas rurales" 30
15. Simbología	42
16. Glosario	42
IV. Presupuesto	45
V. Cronograma	46
VI. Anexos sobre la elaboración del artículo	47
	14.2 Figuras "Evaluación del biofloc con especies nativoreochromis sp. antes de implementar en las zonas rur 14.3 Tablas del artículo "Evaluación del biofloc con es cultivos de <i>Oreochromis sp.</i> antes de implementar en la 15. Simbología

Resumen de la elaboración del artículo

En el Ecuador el camarón blanco es la especie cultivada más importante; sin embargo especies de peces como la tilapia, trucha, cachama y chame, están ganando rápidamente importancia en número de actores y producción en todas las regiones, especialmente en la región amazónica. La producción acuícola en Ecuador fue estimado en 160 000 toneladas en 2009, de las cuales al camarón blanco le corresponde una producción de 143 000 toneladas, seguida de la tilapia con unas 15 000 toneladas (Phillips et al., 2016). Actualmente la provincia de Manabí mantiene una actividad acuícola importante por lo que la bio-producción de peces para la acuicultura utilizando tecnologías mejoradas de control microbiano puede ser una de las alternativas sostenibles de diversificación. La Tecnología de biofloc es un método alternativo de cultivo de peces o crustáceos, que está integrada por un conjunto de microorganismos que forman flóculos, entre los que se encuentran bacterias, hongos y levaduras, a su vez, éstos son pastoreados por bentos y plancton, protozoos, ciliados (Ibarra et al., 2015).

El enfoque sostenible de la tecnología de biofloc se basa en el crecimiento de microorganismos en el medio de cultivo, beneficiado por el cambio de agua mínimo o cero. Estos microorganismos (flocs) tienen dos funciones principales: (i) el mantenimiento de la calidad del agua, mediante la absorción de compuestos nitrogenados de generación "in situ" proteína microbiana; y (ii) la nutrición, el aumento de la viabilidad de la acuacultura mediante la reducción de la relación de conversión del alimento y una disminución de los costos de alimentación (Emerenciano *et al.*, 2012), siempre que se lleve un manejo adecuado del sistema para no sobrepasar la capacidad del biofloc de procesar los elementos que se producen en la descomposición o trasformación de los sustratos, pues como menciona Avnimelech (1999) si carbonos y nitrógenos están bien equilibrados los residuos serán convertidos en biomasa proteica bacteriana, para lograr una correcta salud en todo el cultivo.

En sistemas de cultivo intensivo se dosifican altas tasas de ración alimenticia, que producen una gran cantidad de materia orgánica, desestabilizando a las

bacterias heterótrofas suspendidas que se encargan de captar los complejos nitrogenados liberados por los peces y utilizarlos en su crecimiento, eliminando de esta manera la toxicidad por amonio y nitritos (Ebeling *et al.*, 2006).

Por lo anteriormente expuesto en esta investigación se realizada en el "Laboratorio de Peces y Crustáceos con Tecnología Biofloc" de la Universidad Técnica de Manabí ubicado en el Jardín Botánico que consistió en la elaboración, implementación y observación del biofloc que fue sembrado con especies nativas de algas y bacterias en cultivos de *Oreochromis sp.* para implemetarse en cultivos rurales cultivos rurales.

| Abstract of article elaboration

In Ecuador white shrimp is the most important cultivated species; However fish species such as tilapia, trout, cachama and call are rapidly gaining importance in the number of players and production in all regions, especially in the Amazon region. Aquaculture production in Ecuador was estimated at 160 000 tonnes in 2009, of which white shrimp corresponds to a production of 143 000 tonnes, followed by tilapia with about 15 000 tonnes (Phillips *et al.*, 2016). Currently the province of Manabí maintains an important aquaculture activity so that the bioproduction of fish for aquaculture using improved technologies of microbial control can be one of the sustainable alternatives of diversification. Biofloc Technology is an alternative method of growing fish or crustaceans, which is composed of a set of microorganisms that form flocs, among which are bacteria, fungi and yeasts, in turn, they are grazed by benthos and plankton, Protozoa, ciliates (Ibarra *et al.*, 2015).

The sustainable approach of biofloc technology is based on the growth of microorganisms in the culture medium, benefiting from minimal or zero water change. These microorganisms (flocs) have two main functions: (i) maintenance of water quality, by the absorption of nitrogenous compounds from generation "in situ" microbial protein; And (ii) nutrition, increasing the viability of aquaculture by reducing feed conversion ratio and decreasing feed costs (Emerenciano *et al.*, 2012), provided that adequate management of System to not exceed the capacity of the biofloc to process the elements that are produced in the decomposition or transformation of the substrates, since as Avnimelech (1999) mentions if carbons and nitrogens are well balanced the residues will be converted into bacterial protein biomass, to achieve a Correct health throughout the crop.

In intensive farming systems, high levels of feed ration are produced, which produce a large amount of organic matter, destabilizing the suspended heterotrophic bacteria that are responsible for capturing the nitrogenous complexes released by the fish and use them in their growth, eliminating in this way The toxicity by ammonium and nitrites (Ebeling *et al.*, 2006).

In the present research was developed in the "Laboratory of Fish and Crustaceans with Biofloc Technology" of the Technical University of Manabí

located in the Botanical Garden that consisted in the elaboration, implementation and observation of the biofloc that was planted with native species of algae and bacteria In cultures of *Oreochromis sp.* Before making rural crops.

III. Artículo elaborado

 Evaluación del biofloc con especies nativas en cultivos de tilapias (Oreochromis sp.) antes de implementar en las zonas rurales.

Evaluation of biofloc with native species in tilapia (*Oreochromis sp.*) before implement it in rural areas.

J. J. Proaño*, T. E. Ibarra

2. Resumen

Este estudio fue realizado en el Laboratorio de Cultivo de Peces y Crustáceos con Tecnología de Biofloc de la UTM, tuvo como objetivo evaluar los cutivos de Oreochromis sp. con tecnología biofloc elaborado con microrganismos de aguas continentales y marínas para implementar en cultivos rurales. Consistió de cuatro etapas, la primera la instalación de los tanques artesanales elaborados con materiales de la zona, denominados T1, T2 y T3; la segunda, la elaboración del biofloc; la tercera etapa que constó de la siembra de los alevines de tilapias a 16 ind/m² en los tres tangues, T1 fue sexando, todos los tangues fueron alimentados al 1% de la biomasa por tres meses; cuarta etapa, modificación de la raciones alimenticias. Obteniendo información a través de la observación y recopilación de datos como la conducta de los peces y biofloc, la presencia de microorganismos en sucesión de poblaciones, los parámetros ambientales y los rangos de peso-talla. Obteniendo resultados como: la simbiosis obtenida en la segunda etapa permite avanzar con la tercera etapa, evidenciando que los peces se reproducen (Tanques no sexados), pérdida de 4 grupos de microorganismos del registro de poblaciones, en los tanques no presento correlación entre el DO y alimento balanceado; en la cuarta etapa existió mortalidad en los tanques, presentó correlación entre el DO-alimento balaceado y disminuyeron los grupos de poblaciones. Con los datos obtenidos se concluyó: es mejor utilizar porcentajes bajos de alimento pero depende del número poblacional de peces y de la diversidad de microrganismos a utilizar, es una tecnología transferible al medio rural, previa capacitación.

3. Palabras clave

Simbiosis, nematodos, tilapia, acuicultura.

4. Abstract

This study was carried out in the Fish and Crustacean Laboratory with Biofloc Technology of the UTM, aimed to identify the viability of Oreochromis sp. With biofloc technology elaborated with microorganisms of inland waters and marines to implement in rural cultures. It consisted of four stages, the first the installation of the artisanal tanks elaborated with materials of the zone, denominated T1, T2 and T3; The second, the development of biofloc; The third stage consisting of tilapia infestation at 16 ind / m² in the three tanks, T1 was sexing, all tanks were fed at 1% of the biomass for three months; Fourth stage, modification of food rations. Obtaining information through the observation and compilation of data such as the behavior of fish and biofloc, the presence of microorganisms in succession of populations, environmental parameters and weight-height ranges. Obtaining results such as: the symbiosis obtained in the second stage allows to advance with the third stage, showing that the fish reproduce (non-sexed tanks), loss of 4 groups of microorganisms from the register of populations, in the tanks did not present correlation between the DO And balanced feed; In the fourth stage there was mortality in the tanks, there was a correlation between the DO-food and the reduced groups of populations. With the data obtained it was concluded: it is better to use low percentages of food but it depends on the population number of fish and the diversity of microorganisms to use, it is a technology transferable to the rural environment, after training.

5. keywords

Symbiosis, nematodes, tilapia, aquaculture.

6. Introducción

Manabí es una de las provincias de la costa ecuatoriana con un clima tropical seco, con dos estaciones; lluviosa que dura de dos a tres meses, y seca de nueve a diez meses, provocando un déficit de agua, lo que dificulta el recambio en cultivos acuícolas en zonas rurales, además en esta provincia se comercializan peces provenientes de la extracción marína y es una de las principales exportadoras de atún (Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones y Proecuador, 2015). Para incrementar la producción de peces continentales, se utilizan especies introducidas como la tilapia que está clasificada como una especie exótica invasora (EEI) de uso comercial (McNeely et al., 2001), en el Ecuador se produce en forma extensiva (Rodríguez et al. 2001) siendo la región del Oriente la principal productora (Phillips et al. 2016), aportando a la seguridad alimentaria (Salomón y Guzmán, 2014), e implementado en cultivos con biofloc intensivos y superintensivos controlados (Collazos y Arias, 2015) evitaría su liberación y ayudaría a optimizar la Acuicultura de Recursos Limitados y la Acuicultura de Micro y Pequeña Empresa (Salomón y Guzmán, 2014).

Por la rusticidad del clima, el biofloc se elaboró con microrganismos de aguas continentales y marínas de la provincia de Manabí, formando un sistema dinámico en un medio de interacciones que exige la correspondencia estructural entre el sistema y su medio, para evitar que se desintegre (Maturana y Luzoro, 2006). La presencia de los organismos está regulado por el Quorum sensing y Quorum quenching influenciando en su crecimiento y función fotoautotrófica quimioautotrófica (March y Eiros, 2013; Tait et al., 2005). Con biofloc (microcosmos) se puede sustituir el alimento balanceado hasta un 50% en cultivos de camarón (Ghanekar, 2009), por lo cual ayudaría a la producción de peces de aguas continentales y evitar la extracción de peces del mar (Da Silva, 2016). Por lo anteriormente expuesto en el Laboratorio de Cultivo de Peces y Crustáceos con Tecnología de Biofloc de la Universidad Técnica de Manabí se planteó un estudio observacional basado en la recopilación de datos como la conducta de los peces y del biofloc, los rangos de peso-talla, la presencia de microorganismos en sucesión de poblaciones y los parámetros ambientales que se analizan desde el punto de vista biológico, identificando su viabilidad en el tiempo para obtener información y su posible implementación en cultivos rurales.

7. Metodología

Para este estudio se dividió en cuatro etapas:

7.1 Primera etapa

Montaje de los materiales y equipos.- En el laboratorio se ubicaron tres tanques exteriores artesanales denominados T1, T2 y T3 con un radio de 0,8 m y una altura de 0,7 m. Los tanques son elaborados con *Guadua sp.*, malla metálica y plástico, cada uno cubierto con malla saran para evitar la depredación, no se realiza control biológico a los exteriores de los tanques, tratando de recrear un ambiente rural, rodeado por flora y fauna (Figura 1.).

7.2 Segunda etapa

Elaboración del biofloc.-El biofloc fue elaborado con meiobentos, protozoarios, algas y bacterias de aguas continentales y terrestres del Ecuador para evitar el ingreso de especies exóticas invasoras (IEE) e introducidos a ambientes cerrados para que especies como la tilapias no representen un peligro en la fauna nativa.

7.2.1 Proceso

En un tanque de 300 litros se introdujeron paulatinamente al sistema organismos como algas *Chlorela, Spirogyra* entre otras; bacterias; levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*); nematodos y protozoarios de agua dulce y salada, desarrollados en un ambiente a 0 ups (unidades partes de salinidad). Se obtuvo un cultivo de microalgas xénico maduro de diversa composición pero dominado por la clorofita marina *Tetraselmis suecica* proveniente de un laboratorio. El agregado microbiano microalga-bacteria-levaduras de tipo heterotrófico (biofloc) se preparó por separado y con bacterias intestinales del *Dormitator sp.* (Ibarra *et al.*, 2014), esperando obtener un microcosmos amplio y variado.

7.3 Recolección de los organismos de vida libre.

7.3.1 Recolección de algas.

Fueron tomados de los ríos y estanques naturales de los cantones Portoviejo, Sucre, Rocafuerte y Santa Ana de la provincia de Manabí.

7.3.2 Muestreo de sedimento y extracción de nematodos de vida libre

Las muestras de meiobentos fueron tomadas de la capa superior de arena 0-5 cm de Punta Bellaca del cantón Sucre, provincia de Manabí.

7.3.3 Procedimiento de la extracción

La meiofauna se extrajo según el método de flotación en medio denso (Ibarra *et al.*, 2014). Se diluyó 454 g de sacarosa en 1000 mL de agua y se mezcló en un agitador magnético. En un frasco de 250 mL se colocó 50 cm cúbicos de sedimento y 150 mL de la solución de sacarosa en agua o medio denso se agita manualmente por 10 min y luego se deja reposar 10 min. Luego se filtró el sobrenadante en malla de 1 mm y 30 micras de diámetro para retener el meiobentos, conteniendo nematodos. Finalmente se cuantificaron los nematodos en una cámara para conteo de meiobentos 'Bogorov' a través de un estereomicroscopio de marca Olympus y se introdujeron al biofloc.

7.4 Tercera etapa

7.4.1 Siembra y adaptación de las tilapias en el biofloc

En tres tanques (T1, T2, T3) se añaden 600 L de biofloc y se sembraron las tilapias.

7.4.2 Biometría de siembra.

El día 11 de abril del 2014 se realizó la biometría de 120 peces, distribuidos en los tres tanques artesanales, con una densidad de siembra de 16 ind/m² (40 peces por tanque).

En T1 se realiza la reversión total de sexo a machos durante su desarrollo larval con 17 a-metil testosterona durante los primeros 30 días de vida de los peces.

En T2 y T3 no se realizó la reversión de sexo para poder registrar si existe reproducción como indicador de la calidad nutricional del biofloc.

7.4.3 Alimento balanceado

Todos los tanques fueron alimentados al 1 % de la biomasa de peces con alimento balanceado al 24% PB (proteína bruta) por tres meses.

7.5 Cuarta etapa

Esta etapa empieza el 13 de agosto del 2014 y se caracteriza porque se utilizan diferentes porcentajes de alimentación en el tiempo.

7.5.1 Los tanques

T1, T2 y T3 después de tres meses de alimentación desde la siembra (tercera etapa) adquieren distinta densidad poblacional, logrando alcanzar en T2-32,8 ind/m² (82 tilapias) y T3-85,2 ind/m² (213 tilapias). T1, debido a la reversión de sexo mantiene la densidad de 16 ind/m² (40 tilapias). Se realizan biometrías de los tanques para proceder a cambiar el porcentaje de alimentación y poder observar la sucesión de las poblaciones del microcosmos, la reproducción y mantenimiento de los peces, los parámetros ambientales, mortalidad y el incremento en la relación talla-peso.

En T1 las tilapias fueron alimentadas al 6% de biomasa total durante 14 días; al 3% los siguientes siete días y al 1,5% los últimos siete días completando 28 días de observación. Se realizaron cuatro biometrías, el 13, el 27 de agosto, el 3 y el 10 de septiembre de 2014.

T2 se alimentó a partir de la biometría del 13 de agosto, durante 14 días al 6% de la biomasa. Desde el 27 de agosto hasta el 10 de septiembre se alimentó al 3% de la biomasa, con una duración adicional de 14 días.

T3 se observa durante 92 días (tres meses) similar al tiempo que se mantuvo a los peces en la tercera etapa. Estos peces fueron alimentados con el 3% de la biomasa desde el 13 de agosto hasta el 12 de noviembre. En este tanque se administra una dosis única de alimento balanceado, para observar si el biofloc, como alimento de los peces, mantiene la densidad poblacional de los peces en el tiempo.

7.5.2 Procedimiento de las biometrías

Para contar la población total se vacío el biofloc en tres tanques de 300 L (Figura 2), se realizaron las biometrías y se observó el estado de salud, la presencia de petequias a nivel branquial y el nivel de mucosidad externa de los peces (Figura 3).

7.6 Datos obtenidos durante todo el proceso de observación.

7.6.1 Mortalidad

La mortalidad se registró en todo el proceso de observación de cada uno de los tanques, y nos permitió observar si el biofloc pudo mantener a los peces.

7.6.2 Observación de sucesión de poblaciones del biofloc.

La observación de poblaciones se realiza cada dos semanas desde la siembra (tercera etapa) de los peces hasta el final de la experimentación (cuarta etapa), identificando la presencia de organismos en el transcurso del tiempo. Para la clasificación taxonómica se utilizaron las claves de Gallo y Apolo (2012) y de Giere (2009).

7.6.2.1 Procedimiento para observar las poblaciones al microscopio

Se toma 200 mililitros (mL) de biofloc de cada tanque, se homogeniza y se toma un mL con una micro pipeta de plástico, se observa al microscopio de contraste de fases marca Olympus Bx 51. Por cada tanque se observan cinco placas.

7.6.3 Adición de la melaza

Se añadió melaza como elemento carbonado en cantidad de 50 mL a cada tanque, cada tres días en la tercera y cuarta etapa.

7.6.4 Parámetros

Los parámetros ambientales como temperatura (T), pH y oxígeno disuelto (DO), fueron tomados dos veces al día, en la mañana a las 6:00 h y en la tarde a las 16:00 h con un multiparámetro YSI560 Professional en las dos etapas finales.

7.6.5 Cálculos realizados

En el programa Excel se calculó la ganancia diaria de peso (GDP) y ganancia diaria de talla (GDT), las formula son:

- GDP= Promedio de la biomasa total de cada biometría/Número de días entre las biometrías.
- GDT=Promedio de todas las tallas registradas en las biometrías /Número de días entre las biometrías.

Se calculó la desviación estándar de los parámetros ambientales como: temperatura, pH y DO; la correlación y coeficiente de determinación entre el DO y el alimento suministrado en cada tanque en las dos etapas finales.

7.6.6 Otras observaciones

Las observaciones que se realizaron para evidenciar la salud fue el incremento de mucosidad analizada sensoriamente y la presencia de petequias en branquias y superficies cutáneas.

8. Resultados

8.1 Primera etapa

8.1.1 Montaje de los materiales y equipos

Los tanques artesanales duraron hasta finalizar la observación, dejando al plástico como el material que mostro deterioro.

8.2 Segunda etapa

8.2.1 Elaboración del biofloc

El biofloc parece estar en simbiosis en esta etapa, se observó a los microrganismos con un microscopio de contraste de fases (figuras 4, 5, 6 y 7) donde se visualiza que conviven, algunas imágenes evidencian la formación de cadenas tróficas como se ve en la figura 5 donde un protozoario está pastoreando a los flóculos bacterianos.

8.3 Tercera etapa

8.3.1 Biometría y rangos de la siembra de los peces

La biometría del 11 de abril de 120 individuos se obtuvo una biomasa de 1533,02 g en el tanque de siembra (Tanque S), que se distribuyó a los tres tanques, con un promedio de 511 g en cada tanque. En la tabla 1 se presentan los valores de biomasa y el promedio de la talla de cada pez expresada en cm, el peso en g, finaliza esta etapa con el registro de la biometría del 13 de agosto durando 129 días y terminan alimentados al 0, 27 por ciento en T1, en T2 al 0,17 y T3 al 0,16 por ciento diario de la biomasa y así continuar con el inicio de la cuarta etapa.

8.4 Cuarta etapa

8.4.1 Biometría e incremento en la relación peso y talla

En la Tabla 2 se observa que: T1 de 40 individuos en la primera biometría y con una biomasa de 5665 g, finalizó con 6174 g, es el que mayor talla y peso alcanzó por cada pez, con 19,95 cm y 158,3 g. En T2 con 82 individuos y con una

biomasa de 8995 g registrada en la primera biometría, finalizó con un peso de 7.249,63 g registrada en la tercera biometría, con una pérdida de 1.745,37 g. T3 con 213 individuos y con un peso de 9.419,03 g, finaliza con un total de 19632 g registrado en la última biometría. En la Tabla 3 se observa la ganancia diaria de peso (GDP) y talla (GDT) dejando en evidencia que el tanque T1 logra obtener un incremento de talla 0,23 cm/día alimentado 3% de la biomasa y T2 3,82 g /día alimentado 6% de la biomasa por siete días, mientras que el T3 se calculó que el alimento balanceado termina siendo suministrado al 0,41 por ciento de la biomasa con GDP 0,55 g/día y GDT de 0,035 cm/día por pez.

En las figuras 8,9 y 10 se observan los rangos de talla-peso que se obtuvieron en cada tanque y cada biometría. En T1 los rangos de distribución de talla y de peso no muestran un incremento significativo, permaneciendo casi constantes entre biometrías, lo que no sucede en T2 donde se observa un mayor incremento de talla y peso entre la primera y segunda biometría, pero disminuye al administrar el alimento al 3% de la biomasa; T1 y T2 tiene un tiempo de duración de 28 días. El T3 estuvo en observación durante 92 días, tiene un incremento de peso y talla desde la primera biometría hasta la última.

8.5 Mortalidad

En la tercera etapa no se registra mortalidad, mientras que en la cuarta etapa si se registra.

El tanque que tiene menor porcentaje de mortalidad es T3 con 2%. El mayor número de individuos se registró en T3 con 49 individuos, pero la diferencia del número de peces desde el inicio de la observación es de cinco peces. En T2 hay el registro de 29 individuos muertos, estos dos tanques se encontraron en reproducción. Se puede observar que donde más gramos se pierden es en T3, pero el pez con mayor peso es de T1 con 198,5 g (casilla de tonalidad obscura). T1 y T2 tienen los mismos días en observación, pero T2 con 2942 g pierde más gramos como se observa en la casilla con tonalidad verde (Tabla 4).

8.6 Observación de poblaciones

En las tablas 5,6 y 7 se puede observar el registro de las poblaciones de los tanques desde la tercera etapa hasta la cuarta. En la tercera etapa se puede visualizar que en los tres registros de poblaciones existen 15 grupos taxonómicos que entre la tercera y quinta observación están presente los grupos,

vorticela, Asquelmintos sp. y Spirogyra sp, solo en T3 la Spirogyra sp desaparece hasta el inicio de la cuarta etapa. Cuando llegamos a la fecha del inicio de la cuarta etapa (13-08-2014) tenemos en T1 y T3 un registro de 11 grupos; en T2, 10 grupos. En T1 termina la observación con 11 grupos, T2 con 9 grupos y T3 con 7 grupos. Los grupos de organismos señalados en las casillas obscuras son los que primero desaparecen en los registros; también observamos grupos que desaparecen pero se los vuelve a registrar en otra observación. Los grupos de las casillas de color celeste son los que permanecen desde el primer registro hasta el final de la observación siendo estos: Daphnia, Desmodesmus, Coscinnodiscus, Charophyta, Chlorela, diatomeas, ciliados, levaduras y los floculos bacterianos, no encontrándose en T3 Charophyta y Daphnia.

8.7 Parámetros ambientales (Temperatura, DO y pH)

Los parámetros en T1, T2 y T3 en la tercera etapa son similares en la tabla de la desviación estándar (Tabla 8) y en las curvas registradas (Tablas 9, 10 y 11), la desviación estándar de los parámetros de T y pH son similares en los tres tanques. En la cuarta etapa se observó variaciones de cada tanque con diferente porcentaje de alimentación en el caso de T1 al 6, 3 y 1,5% de la biomasa, en el caso de T2 al 6 y 3% y T3 al con una dosis única del 3% desde la biometría del 13 de agosto. El que logra reducir variables con respecto DO es T1 e incluso mejor que antes de entrar en la observación (casilla de color azul en la Tabla 8). Durante la observación la desviación estándar del DO en T2 es la que mayor variabilidad presenta en relación con T1 y T3, pero en el registro de T3 (Tabla 11.) es el que mejor logra estabilizar el DO en el último mes.

8.8 Correlación de Pearson y coeficiente de determinación entre el DO y el alimento suministrado

En la tercera etapa los resultados mostraron que no existe correlación entre el alimento suministrado y el DO, lo contrario sucede en la cuarta etapa donde en la mañana del T1, la mañana y tarde del T2 existe una correlación negativa media respectivamente entre alimento balanceado y DO, lo que no sucede en T3 donde tenemos una correlación positiva baja, según los resultados del coeficiente de determinación estas variables casi no tienen relación.

8.9 Otros resultados.

Se observó un incremento en la mucosa que recubre el cuerpo de los peces al momento de hacer las biometrías, no se encontraron petequias en las aletas y branquias como signos de infección.

9. Discusión

La instalación de los equipos y la elaboración del biofloc permitió continuar con la etapa tres y cuatro obteniendo estos datos: En la tercer etapa (tabla 4.) no se registra mortandad a pesar de ser alimentados al uno por ciento de la biometría de siembra (Tabla 1.), el mantenimiento de los peces puede deberse a la presencia de protozoarios de agua dulce y de mar, algas diatomeas, nematodos, bacterias y levaduras, que forman cadenas tróficas, por ejemplo, los nematodos de vida libre se alimentan de bacterias (Moens T y Vincx, 2000) y los peces de los nematodos que son ricos en proteína (48,5%), lípidos (17,3%) y carbohidratos (31,36%) (Laureiro et al., 2012)) y la presencia de algas ricas en proteínas, ácidos grasos poliinsaturados, xantofilas, diadinoxantinas, diatoxantinas, entre otras (Laureiro et al., 2012) y que estarían supliendo al alimento balanceado. Probablemente por la presencia de alimento natural y la escases de alimento suministrado permite que no exista correlación entre el DO-alimento balanceado en todos los tanques a 25°C (Tablas 9, 10, 11 y 12), existiendo menor variabilidad en los datos (Tabla 8.), lo que permite tener niveles óptimos y similares en T, pH y DO (Tabla 9,10 y11), de la T dependerá el consumo de DO es decir, a mayor T mayor consumo de O₂, en *Oreochromis sp* de peso menor a 25 g (Tabla 1) a temperaturas de 30 °C consumen 47% más de DO que peces de 800 g (Suárez et al., 2013).

En esta etapa se registran algunos grupos que desaparecen del registro como: Vorticela sp., Asquelmintos y Spirogyra sp. en los tres tanques que podría estar relacionado con la disponibilidad de los sustratos (alimento balanceado y melaza) o los parámetros ambientales que realizarían una selección artificial de unos microrganismos que limitaría el crecimiento de otros (Valbuena y Cruz, 2006) o que se esté realizando rápidamente un proceso de adaptación, permaneciendo los que pueden acoplarse al sistema (Maturana y Luzoro, 2006) o la ausencia de los nematodos que se alimentan de bacterias y tienen correlación positiva con el DO (Margulis y Sagan, 1995) al igual que las microalgas como Chlorella, Navícula, entre otras (Sellanes *et al.*, 2003), o la administración de sustratos como la melaza (50 mL) que se utiliza para mantener a las bacterias en el sistema. Según Salehizadeh y Loosdrecht (2004) es recomendable utilizar dosis altas de melaza si lo que se desea es que los microorganismos almacenen productos de reserva, aunque la administración de ésta en cantidades altas y prolongadas produce un crecimiento de microorganismos por adición de sustrato incrementando la turbiedad del agua (Collazos y Arias 2015), a la vez la densidad de microrganismos provocaría un incremento en la mucosidad del pez produciendo inmunoglobulinas M que son sintetizadas localmente y se da como medio de respuesta a la densidad de los mismos (lan y Tizard, 2002).

Las especies como la tilapia *Oreochromis niloticus*, alcanzan su madurez sexual entre los 30-40 g y puede darse la reproducción todo el año cuando la temperatura está a 24°C (Suresh, 2000), las tilapias de los tanques T2 y T3 alcanzan un número de 32,8 ind/m² y 85,2 ind/m² respectivamente pero estas fueron sembradas a 16 ind/m² y la densidad de siembra en cultivos intensivos puede ir de10 ind/m² a 20 ind/m² (Balbuena *et al.*, 2011) hasta 50 ind/m² a 100 ind/m² (Rodríguez, 2001); el mantener la densidad poblacional de los peces permitió observar en tiempo si se realiza una adaptación entre los organismos-microorganismos manteniendo su especificidad (Maturana y Luzoro, 2006).

En la cuarta etapa T1 es alimentado al 6, 3 y 1,5% de la biomasa total, T2 es alimentado al 6 y 3% y T3 es alimentado al 3 por ciento y termina al 0,41%; según Azim y Little (Azim y Little 2008) para que el cultivo sea rentable es suficiente una alimentación del 1,5% de la biomasa total. En la Tabla 8 se observa que en T1 las variaciones en los registros de oxígeno disuelto son menores que en los otros dos tanques, pero a pesar de administrar cantidades altas de alimento presenta una correlación negativa entre el DO y el alimento suministrado en la mañana (-0.43) y casi no tienen correlación estas dos variables en la tarde (-0,16), mientras que en T2 se obtiene una correlación negativa media entre el DO y el alimento balanceado de -0,65 en la mañana y -0,72 en la tarde, a diferencia de T3 donde no existe correlación, los resultados que presentan correlación son similares a los registrados por Patti (2011) con

una correlación de -0,69 muy significativo. T2 y T3 a pesar de las diferencias en los resultados de correlación, en estos dos tanques se registran caídas abruptas del O₂ de 0,64 y 0,32 respectivamente (Tablas 10 y 11), la mortalidad de los peces puede estar correlacionada con el DO que según Poot (2009) niveles de 0,3-2,0 mg/L son letales en exposiciones prolongadas, pero la supervivencia de los peces tal vez se deba a la posibilidad de que las tilapias tienen la capacidad de saturar el oxígeno en la sangre, cuando existe una disminución de este elemento en el sistema, ellas liberan el oxígeno sanguíneo y pueden mantenerse (FAO, 2017). Estos valores de los parametros pueden influenciar en la ausencia de los grupos en los registros de poblaciones, y dejando a unos pocos que permanezcan en el sistema, siendo estos: Desmodesmus sp., Daphnia sp., Coscinnodiscus sp., Charophyta sp., Chlorela sp., ciliados , diatomeas, levaduras y los flóculos bacterianos, que han formado una simbiosis con los peces (Margulis y Sagan 1995), evidenciando su capacidad de adaptación (Maturana y Luzoro, 2006) y autopoiesis que dejaría como resultado que todo organismo debe establecer y preservar su autonomía organizacional frente a las perturbaciones del entorno, (Maturana y Luzoro, 2006), por otra parte los floculos bacterianos van a intervenir a través del Quorum Sensing mediante los autoinductores tipo 1 o acil-homoserina-lactonas (AHL), oligopeptidos y autoinductores tipo 2 que se encargan de la comunicación bacteriana, estos mensajeros pueden ser interrumpidos por el Quorum Quenching por parte de la célula eucariota y algas (March y Eiros, 2013; Tait et al., 2005), aunque la simbiosis se alcanzaría cuando existen funciones específicas de las especies en el sistema en una línea de tiempo (Maturana y Luzoro, 2006), esto corrobora lo expresado por Margulis y Sagan (1995) "La tendencia de los sistemas a organizarse no proviene de sus componentes interiores sino de los gradientes presentes en su entorno inmediato", tal vez por eso en T2 la GDP en este tanque es la más alta con 3,82 g al 6% de alimento (Tabla 3), estos datos también se puede comprobar con los rangos de las biometrías (Tablas 8, 9 y 10) y al disminuir la ración alimenticia al 3% se registra en este último periodo la mortalidad de 29 individuos, peso que afecta en el registro de la biometría del 10 de septiembre, sin embargo el nivel poblacional de los peces trata de restablecerse mediante la reproducción, con un porcentaje de mortalidad de 12,19 para T2 y 2,34% en T3 con un déficit de diez y cinco individuos

respectivamente (Tabla 4). En esta etapa T2 y T3 terminan disminuyendo en el registro de poblaciones 9 y 7 grupos respectivamente a excepción del T1 que termina con 11 grupos de manera similar en la tercera etapa, los tanques que disminuyen los grupos pueden verse afectados por la administración de sustratos como el alimento balanceado y la melaza (Collazos y Arias, 2015; Maturana y Luzoro, 2006; Valbuena y Cruz, 2006).

Por otra parte el biofloc puede ser considerado como un probiótico que está disponible en el sistema y que ayudaría a optimizar el alimento, ingresando grandes cantidades al tracto gastrointestinal del pez, como se observó en el contenido estomacal de 29 *Oreochromis sp.* (Ibarra *et al.*, 2015), pudiendo ser parte de los microbiomas del pez, que promueven la salud y protegen contra el ataque de patógenos evitando la disbiosis del microbioma intestinal (Zhi *et al.*, 2016), lo cual ayudaría a evitar la mortalidad.

10. Conclusiones

El biofloc juega un papel fundamental en la cadena trófica de los cultivos porque es la base de la alimentación de protozoarios como los nematodos que alimentan a los peces y pueden suplir las necesidades nutricionales de los peces y microrganismos, permitiendo a las especies mantener su densidad poblacional. Para que sea viable el biofloc debe tener una abundancia de microorganismos como en T1 aunque en este tanque la densidad poblacional de peces no es una variante como seria en T2 que en este tanque juega un rol fundamental para evidenciar los requerimientos que tiene un sistema cuando se encuentra en reproducción. La bajas raciones alimenticias son las ideales para mantener al sistema pero dependiendo de la elaboración del biofloc y de su abundancia meiobentonica, algal, bacteriana entre otros, que suplen las necesidades nutricionales de los peces y ayudan a mantener el pH y el DO como se lo evidencia en la tercera y cuarta etapa en T3 que podría influir en la capacidad de adaptación de las especies logrando la viabilidad del cultivo. También estos resultados dependerán de la densidad poblacional de los peces y las demandas de nutrientes de los mismos como se evidencia en T1 y T2 que en la tercera etapa estos tanques se comportaron de una manera similar a pesar de que T2

estaba en reproducción y el otro no, en la cuarta etapa T1 no tuvo inconvenientes en sobrellevar el juego de la administración de las dosis alimenticias abruptas, terminado en el registro con 11 grupos; pero a T2 por lo contrario le costó estabilizarse en el mismo tiempo de 28 días , terminado la observación con 9 grupos, una perdida en la densidad poblacional de diez peces y caídas severas del oxígeno disuelto.

Toda esta conclusión es como afirma Maturana (2006):

"Un organismo o ser vivo, es un sistema que mientras conserva su organización está en continuo cambio de estado. Un observador que mira al organismo o al ser vivo como unidad interactuando en un medio, no ve su cambio de estado, solo ve sus cambios de posición o de forma en el medio como reacción a las perturbaciones de éste, o como resultado de su propia dinámica interna" (p. 39). Por lo observado, el biofloc es una tecnología aplicable en el sector rural, pero es necesaria una capacitación en el manejo, recolección y reproducción de organismos de vida libre que pueden ayudar al sistema, también se evitaría las EEI, ayudando a mantener los hábitats donde se realicen los cultivos.

11. Recomendación

Continuar con la investigación con la tecnología biofloc en otras especies de preferencia nativas, realizar el estudio económico y realizar análisis sensoriales al finalizar los cultivos.

12. Agradecimiento

A la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) y a la Universidad Técnica de Manabí por cofinanciamiento.

A Daniel Colgan Badillo por la traducción al inglés, Andy Proaño Morales por la revisión literaria y a los estudiantes de la Escuela de Acuicultura y Pesquería de la Universidad Técnica de Manabí colaboración en la fase de campo.

13. Referencias bibliográficas

Avnimelech, Y. (1999). Carbon/Nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture, 176 (3-4), 227–235.

Azim M, Little D. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, bofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquaculture [Internet]. [Citado el 26 de Abril de 2017]; 283, 29-35. Disponible en https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036

Balbuena E, Rios V, Flores A, Meza J, Galeano A. 2011. Manual Básico de Sanidad Piscícola. Paraguay: FAO. Disponible en http://www.fao.org/3/a-as830s.pdf

Collazos L y Arias J. 2015. Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. Rev Orinoquia [Internte]. [Citado el 04 de Abril de 2017]; 9(1), 77-86. Disponible en http://www.redalyc.org/pdf/896/89640816007.pdf

Da Silva G. 2016. Estado Mundial de la Pesca y la Acuacultura. FAO. Disponible en http://www.fao.org/3/a-i5798s.pdf

Ebeling, J.M.; Timmons, M.; Bisogni, J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia- nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture, 257 (1-4), 346-358.

Emerciano, M., Ballester, E., Cavalli, R., Wasielesky, W., (2012). Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp Farfantepenaeus brasiliensis. Aquaculture, 43 (3), 447-457. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02848.x.

FAO. 2017. Programa de información de especies acuáticas, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). [Citado el 28 de Abril de 2017]. Disponible en http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/es

Gallo N, Apolo B. 2012. Fundamentos de la ficología. Quito, Ecuador: Gráficas Ortega.

Ghanekar A. 2009. How biofloc technology reduces feed and filtration costs in recirculated shrimp nursery systems. Aqua culture Asia Pacific [Internet]. [Citado el 07 de abril de 2017]; 5(3): 72 –74. Disponible en http://www.aquaasiapac.com

Giere O. 2009. Meiobenthology, The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments. 2^a ed. Universitat Hamburgo: Germany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

lan, Tizard. 2002. Inmunología veterinaria. 6ª ed. Baja California, México: McGRAW-HILL Interamericana Editores.

Ibarra E, Carratalá H y Proaño J. 2015. Determinación del Índice de Importancia Relativa en *Oreochromis sp* cultivadas con biofloc y alimento balanceado. Revista la Técnica [Internet].[Citado el 29 de Abril de 2017]; 14, 62-71. Disponible en http://revistas.utm.edu.ec/index.php/latecnica/article/view/583

Ibarra E, Carratalá H y Proaño J. 2015. Determinación del Índice de Importancia Relativa en Oreochromis sp cultivadas con biofloc y alimento balanceado. Revista la Técnica [Internet]. [Citado el 29 de Abril de 2017]; 14, 62-71. Disponible en http://revistas.utm.edu.ec/index.php/latecnica/article/view/583

Ibarra E, Rojas C, León R. 2014. Ensayo de un sistema artificial con sedimento para crecimiento de juveniles de Litopenaeus vannamei: evaluación de dos microcohortes con participación de nematodos y 'bioflocs'. Revista la Técnica [Internet]. [Citado el 08 de abril de 2017]; 12: 64-75. Disponible en http://revistas.utm.edu.ec/index.php/latecnica/article/view/596

Instituto de promoción de exportaciones e inversiones, Proecuador. 2015. Boletín de Comercio Exterior [Internet]. [Citado el 10 de May de 2017]; 5 (2): 9-10. Disponible en http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2015/03/Boletin-BCE-feb-mar-15-final.pdf

Laureiro C, Wasielesky W, Abreu P. 2012. The use of protozoan, rotifers and nematodes as live food for shrimp raised in bft system. Atlántica, Rio Grande [Internet]. [Citado el 27 de Abril de 2017]; 34(1): 5 – 12. Disponible en http://dx.doi.org/10.5088/atlântica.v34i1.2698

March G, Eiros JM. 2013. Quorum sensing en bacterias y levaduras (Revisión). Med Clin (Bar) [Internet]. [Citado el 03 de May de 2017]; 141(8): 353–357. http://doi:10.1016/j.medcli.2013.02.031

Margulis L, Sagan D. 1995. Microcosmos, cuatro millones de años de evolución desde nuestros ancestros microbianos. Barcelona, España: Tusquets Editores.

Maturana H, Luzoro J. 2006. Desde la biología a la psicología. Santiago de Chile, Chile: Editorial Universitaria.

McNeely J, Mooney H, Neville L, Schei P, Waage J. 2001. Estrategia Mundial sobre Especies Exóticas Invasoras. E.E.U.U.: UICN, Cambridge, GISP. ISBN: 2-8317-0609-2

Moens T, Vincx. 2000. Temperature, salinity and food thresholds in two brackish-water bacterivorous nematode species: assessing niches from food absorption and respiration experiments. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology [Internet]; [Citado el 19 de Abril de 2017]; 243: 137-154. Disponible en https://doi.org/10.1016/S0022-0981(99)00114-8

Patti J, Esteve M y Gaviria J. 2011. Consumo de oxígeno del híbrido de tilapia roja florida *Oreochromis sp.* en agua de mar, bajo condiciones de laboratorio. Rev. Saber [Internet]. [Citado el 29 de Abril de 2017]; 23(2): 99-106. Disponible en http://www.ojs.udo.edu.ve/index.php/saber/article/view/79

Phillips M, Rohana P, Kassam L, Chan Y. 2016. Aquaculture Big Numbers. Roma: FAO. ISBN 978-92-5-109466-2.

Phillips M, Rohana P, Kassam L, Chan Y. 2016. Aquaculture Big Numbers. Roma: FAO. ISBN 978-92-5-109466-2.

Poot C, Novelo R y Hernández M. 2009. ABC, en el cultivo integral de la tilapia. Centro de Estudios Tecnológicos del Mar 02 en Campeche y Fundación Produce Campeche, A. C., México.

Rodríguez H, Danza P, Carrillo M. 2001. Fundamentos de la acuicultura continental. 2ª ed. Bogotá, Colombia: GRAFIMPRESOS QUINTERO.

Salehizadeh H, Van Loosdrecht MC. 2004. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. Biotechnology

Advances [Internet]. [Citado el 28 de Abril de 2017]; 22: 261–279. Disponible en http://doi:10.1016/j.biotechadv.2003.09.003

Salomón S, Guzmán L. 2014. Agricultura familiar en América Latina y el Caribe: Recomendaciones de Política. Santiago, Chile: FAO. E-ISBN 978-92-5-308364-0.

Sellanes J, Neira C, Quiroga E. 2003. Composición, estructura y flujo energético del meiobentos frente a Chile central. Rev. chil. hist. nat [Internet]. [Citado el 25 de Abril de 2017]; 76: 401-415. Disponible en http://doi.org/10.4067/S0716-078X2003000300006

Suárez A, Guevara M, González M, Cortez R, Vega B. 2013 Crecimiento y composición bioquímica de *Thalassiosira pseudonana* (*Thalassiosirales: Thalassiosiraceae*) bajo cultivo semi-continuo en diferentes medios y niveles de irradiancias. Rev. biol. Trop [Internet].[Citado el 18 de Abril de 2017]; 61(3): 1003 – 1013. Disponible en

http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442013000400002

Suresh A. 2000. Últimos avances en el manejo de reproductores de tilapia. Revista Aquatic [Internet].[Citado el 28 de Abril de 2017]; 10. Disponible en http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h_c=87n

Tait K, Joint I, Daykin M, Milton D, Williams P, Cámara M. 2005. Disruption of quorum sensing in seawater abolishes attraction of zoospores of the green alga Ulva to bacterial biofilms. Environ Microbio [Internet]. [Citado el 04de Mar de 2017]; 7(2): 229–240. http://doi:10.1111/j.1462-2920.2004.00706.x

Valbuena R y Cruz P. 2006. Efecto del peso corporal y temperatura del agua sobre el consumo de oxígeno de tilapia roja (*Oreochromis sp*). Rev. Orinoquia [Internet]. [Citado el 25 de Abril de 2017]; 10(1): 57-63. Disponible en http://www.redalyc.org/pdf/896/89610107.pdf

Zhi L, Wenshu L, Chao R, Jun H y Zhigang. 2016. Abrupt suspension of probiotics administration may increase host pathogen susceptibility by inducing gut disbiosis. Scientific Reports [Internet]. [Citado el 29 de Abril de 2017]; 6: 23214. Disponible en http://doi:10.1038/srep23214

14. Anexos

14.1 Fotografías del artículo "Evaluación del biofloc con especies nativas en cultivos de *Oreochromis sp.* antes de implementar en las zonas rurales".



Figura 1. Tanques con tecnología biofloc en cultivo exterior de tilapias (Tomada del laboratorio de "Cultivo Sustentable de Peces y Crustáceos con Tecnología Biofloc").



Figura 2. Extracción de *Oreochromis sp* y biofloc para la realización de biometrías (Tomada del laboratorio de "Cultivo Sustentable de Peces y Crustáceos con Tecnología Biofloc").



Figura 3. Realización de la biometría de *Oreochromis sp* (Tomada del laboratorio de "Cultivo Sustentable de Peces y Crustáceos con Tecnología Biofloc").

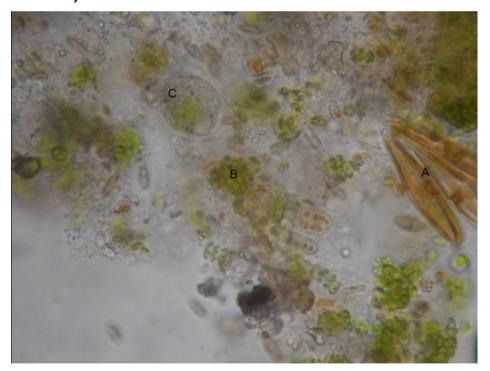


Figura 4. Componentes del biofloc, observado al microscopio 40 X. A. Diatomea navícula, B. Chlorella y C. protozoario (Tomada del laboratorio de "Cultivo Sustentable de Peces y Crustáceos con Tecnología Biofloc").

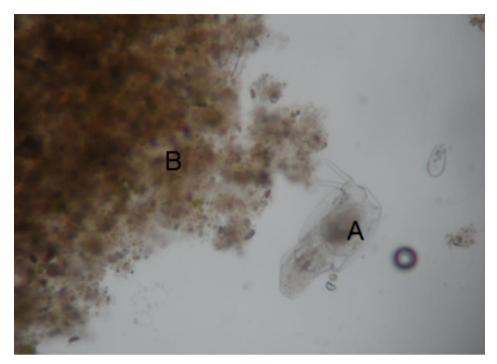


Figura 5. Metazoo, Asquelmintos (del genero *Philodina*) (A), pastoreando a los flóculos bacterianos (B) observado 20X (Tomada del laboratorio de "Cultivo Sustentable de Peces y Crustáceos con Tecnología Biofloc").

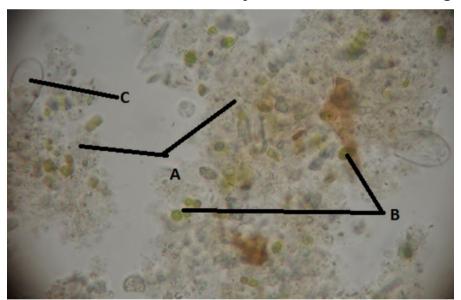


Figura 6. Microcosmos (flóculos bacterianos (A), algas (B) y protozoarios (C)) en simbiosis, observado 20X (Tomada del laboratorio de "Cultivo Sustentable de Peces y Crustáceos con Tecnología Biofloc").

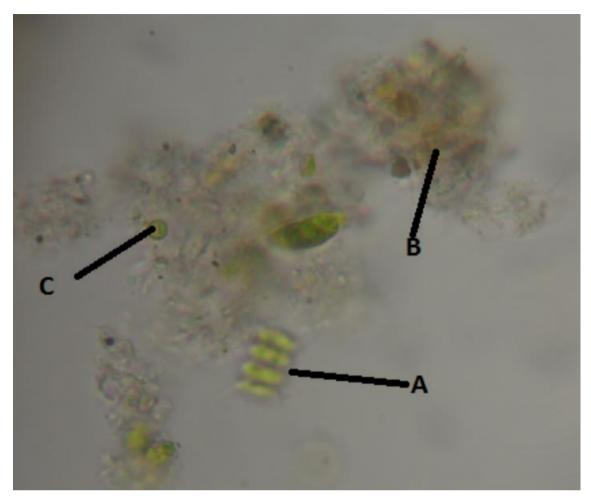


Figura 7. Desmodesmus (A), flóculos bacterianos (B) y Cenobio de cianofitas (C), observada a 20X. (Tomada del laboratorio de "Cultivo Sustentable de Peces y Crustáceos con Tecnología Biofloc").

14.2 Figuras "Evaluación del biofloc con especies nativas en cultivos de *Oreochromis sp.* antes de implementar en las zonas rurales".

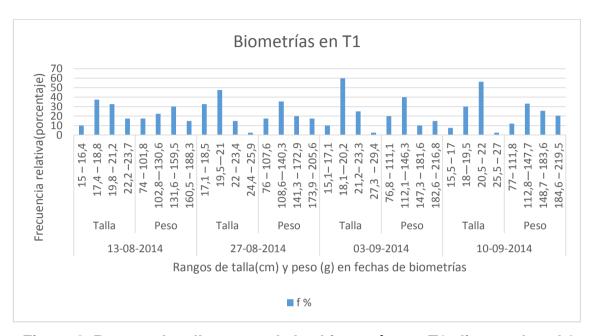


Figura 8. Rangos de talla y peso de las biometrías en T1 alimentados al 6, 3 y 1,5% (4ª etapa).

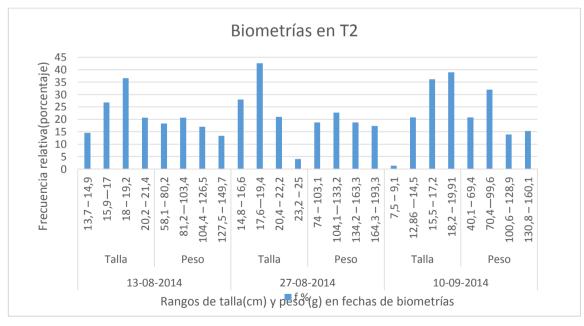


Figura 9. Rangos de talla y peso de las biometrías en T2 alimentado al 6 y 3% (4ª etapa).

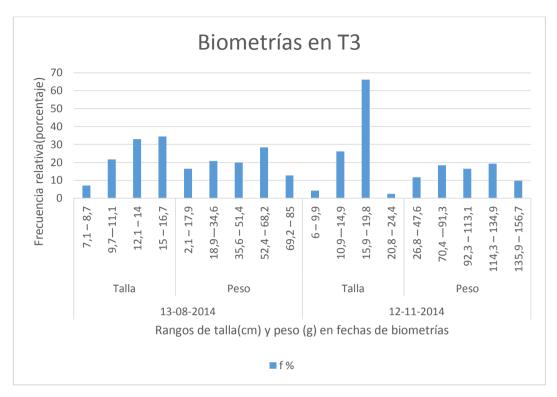


Figura 10. Rangos de talla y peso de las biometrías en T3 alimentado al 3% (4ª etapa).

14.3 Tablas del artículo "Evaluación del biofloc con especies nativas en cultivos de *Oreochromis sp.* antes de implementar en las zonas rurales".

Tabla 1. Biometría de la siembra donde se observa la biomasa total y el promedio de talla-peso (3ª etapa).

Biometría de siembra de Orechromis sp

Diametríca	Cooke		Talla/nasa	Val	ores	% de	
Biometrías	Fecha	Tanques	Talla/peso	Total	Promedio	alimentación	
Siembra	11-04-		Talla (cm)		6,7	1	
(inicio)	2014	Tanque S	Peso (g)	1533,02	12,77	·	
	13-08-	T1	Talla (cm)		19,32	0,27	
	2014	11	Peso (g)	5665	141,6	0,21	
Final de la	13-08-	Т0	Talla (cm)		17,31	0.47	
tercera etapa	2014	T2	Peso (g)	8995	106,69	0,17	
	13-08-	Т0	Talla (cm)		12,7	0.40	
2014	Т3	Peso (g)	9419	44,22	0,16		

Tabla 2. Resultado de biometrías de los tanques en la 4ª etapa.

Biometrías de los tanques de *Orechromis sp.*

Tanques	Fechas	Talla/peso	Biometrías	
			Total	Promedio
	13-08-2014	Talla (cm)		19,32
		Peso (g)	5665	141,6
	27-08-2014	Talla (cm)		19,33
Т4		Peso (g)	5690	142,3
T1	03-09-2014	Talla (cm)		19,74
		Peso (g)	6174	154,4
	10-09-2014	Talla (cm)		19,95
		Peso (g)	6174	158,3
	13-08-2014	Talla (cm)		17,31
		Peso (g)	8995	106,69
Т2	27-08-2014	Talla (cm)		18,15
T2		Peso (g)	10235	136,47
	10-09-2014	Talla (cm)		16,55
		Peso (g)	7249,63	100,7
	13-08-2014	Talla (cm)		12,7
То		Peso (g)	9419	44,22
Т3	12-11-2014	Talla (cm)		15,92
		Peso (g)	19632	94,38
_				

Tabla 3. Ganancia diaria de peso en gramos (GDP) y la ganancia diaria de talla (GDT) en centímetros por cada pez en los tanques a observación en la 4ª etapa.

	GDP y GDT por cada pez en los tanques						
Tanques	T1			T2		Т3	
Porcentaje de alimentación	6%	3%	1,5%	6%	3%	3-0,41%	
GDP	0,009	1,73	0,56	3,82	-2,55	0,55	
GDT	0,001	0,23	0,03	0,12	-0,11	0,035	

Tabla 4. Mortalidad de los peces por tanque y pesos promedios. *Número de peces muertos y el peso total*

Tanq ue	#ind/pri mer muestre o	#ind/ulti mo muestre o	Muertos registra dos	% Mortalid ad	Peso(g) total de muertos	Peso promed io	Tanques en Reproducci ón
T1	40	39	1	2,5	198,5	198,45	No
T2	82	72	29	12,19	2942,05	101,45	Si
Т3	213	208	49	2,34	4623,54	94,35	Si

Gris obscuro: peso total del pez muerto

Gris claro: mayor porcentaje de mortalidad

Verde obscuro: cantidad en gramos de tilapias muertas en 28 días al igual que

T1.

Tabla 5. Sucesión de poblaciones de T1.

Registro de la sucesión de las poblaciones del biofloc de T1

				3ª 6	etapa					4ª etapa	 a
Organismos	11-04	26-04	10-05	26-05	10-06	26-06	11-07	26-07	13-08	25-08	10-09
Dinoflagelado s	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Ciliados	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nematodos	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Cianobacteria s	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
(Anabaena)											
Daphnia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diatomeas sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vorticelas	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Asquelmintos sp.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Coscinnodisc us	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Spirogyra	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Charophyta	+	+	_	+	_	+	+	+	+	+	+
(Pediastrum)											·
Desmodesmu s	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chorelas sp	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Levaduras	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Floculos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Total de especies	15	15	15	15	14	13	11	11	11	10	11

Nota: + significa presencia y el - ausencia.

Celeste: organismos presentes todo el cultivo Gris: organismos que desaparecen rápidamente.

Jonathan Proaño UTM

Tabla 6. Sucesión de poblaciones de T2.

Registro de la sucesión de las poblaciones del biofloc de T2

				3ª 6	etapa					4ª etapa	
Organismos	11-04	26-04	10-05	26-05	10-06	26-06	11-07	26-07	13-08	25-08	10-09
Dinoflagelados	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
Ciliados	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nematodos sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Cianobacterias											
(Anabaena)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Daphnia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diatomeas sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vorticelas	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Asquelmintos sp.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Coscinnodiscus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Spirogyra	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
Charophyta											
(Pediastrum)	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Desmodesmus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chorelas sp	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Levaduras	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Floculos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Total de especies	15	15	15	12	12	13	11	11	10	9	9

Nota: + significa presencia y el - ausencia.

Celeste: organismos presentes todo el cultivo

Gris: organismos que desaparecen rápidamente.

Tabla 7. Sucesión de poblaciones de T3.

Registro de la sucesión de las poblaciones del biofloc de T3

				3ª	etapa							4ª eta	ара		
Organismos	11-04	26-04	10-05	26-05	10-06	26-06	11-07	26-07	13-08	25-08	60-60	25-09	10-10	25-10	12-11
Dinoflagelados	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Ciliados	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nematodos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Cianobacterias (Anabaena)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Daphnia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Diatomeas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vorticelas	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asquelmintos	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coscinnodiscus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Spirogyra	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Charophyta (Pediastrum)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Chorelas sp	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Desmodesmus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Levaduras	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Floculos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Total de especies	15	15	15	13	14	14	11	12	11	10	9	9	7	7	7

Nota: + significa presencia y el - ausencia.

Celeste: organismos presentes todo el cultivo

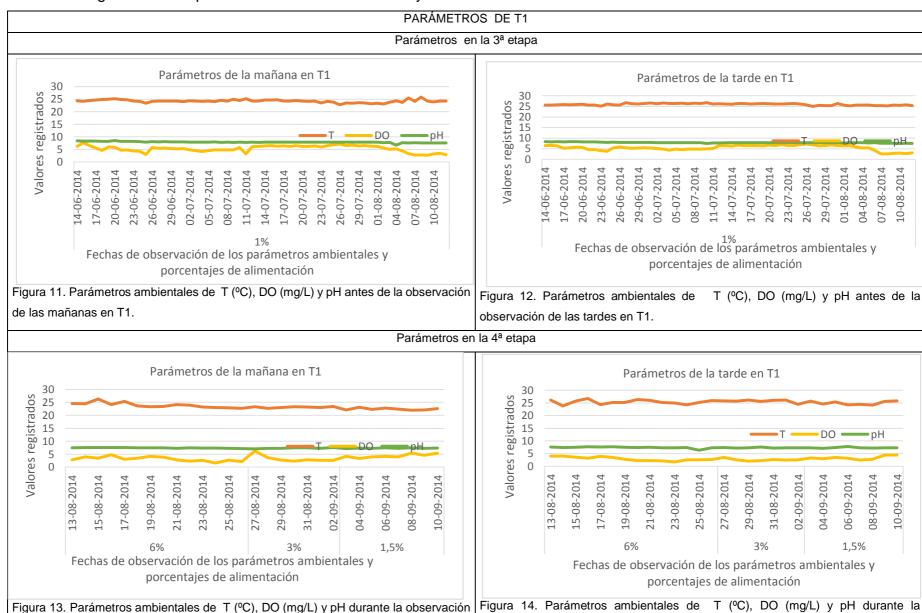
Gris: organismos que desaparecen rápidamente.

Tabla 8. Desviación estándar de los parámetros en la 3ª y 4ª etapa.

Desviación estándar de los parámetros en la mañana y tarde de los tanques

Tangi	Tanque		ura (C°)	рН	<u> </u>	DO		
range			Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	
	T1	0,57	0,43	0,26	0,20	1,24	1,21	
3ª etapa	T2	0,50	0,42	0,23	0,23	1,14	1,19	
	Т3	0,62	0,49	0,26	0,25	1,45	1,41	
	T1	0,95	0,76	0,14	0,26	1,04	0,73	
4ª etapa	T2	1,39	1,1	0,26	0,19	1,88	1,79	
	Т3	1,12	1,08	0,21	0,19	1,82	1,55	

Tabla 9. Registros de los parámetros ambientales antes y durante la observación en T1

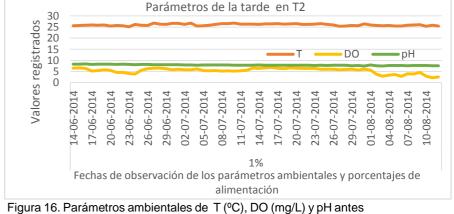


observación de las tardes en T1.

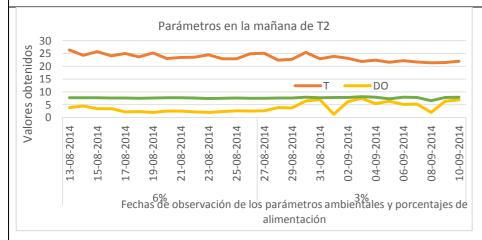
de las mañanas en T1.

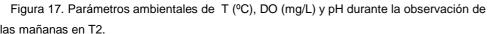
Tabla10. Registro de los parámetros ambientales antes y durante la observación en T2

PARÁMETROS DE T2 Parámetros en la 3ª etapa Parámetros de la mañana en T2 30 25 20 15 Valores registrados Valores registrados 10 5 0 4-06-2014 17-06-2014 26-06-2014 29-06-2014 02-07-2014 05-07-2014 23-07-2014 26-07-2014 29-07-2014 01-08-2014 04-08-2014 07-08-2014 10-08-2014 20-06-2014 23-06-2014 08-07-2014 11-07-2014 14-07-2014 17-07-2014 20-07-2014 Fechas de observación de los parámetros ambientales y porcentajes de alimentación Figura 15. Parámetros ambientales de T (°C), DO (mg/L) y pH antes de la observación de de la observación de las tardes en T2 las mañanas en T2.



Parámetros en la 4ª etapa





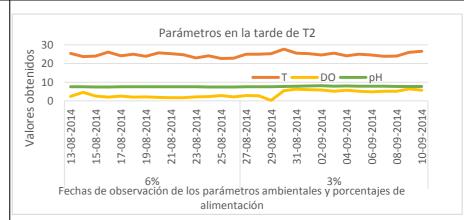


Figura 18. Parámetros ambientales de T (°C), DO (mg/L) y pH durante la observación de las tardes en T2.

Tabla11. Registros de los parámetros ambientales antes y durante la observación en T3

PARÁMETROS DE T3

Parámetros en la 3ª etapa

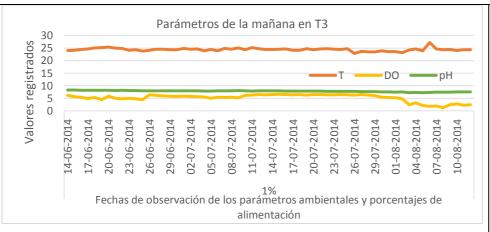


Figura 19. Parámetros ambientales de T (°C), DO (mg/L) y pH antes de la observación de las mañanas en T3.

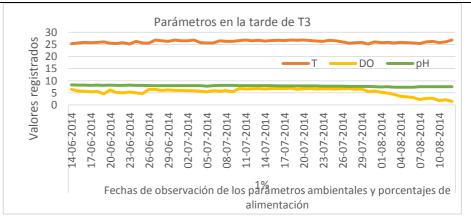


Figura 20. Parámetros ambientales de T (°C), DO (mg/L) y pH antes de la observación de las tardes en T3.

Parámetros en la 4ª etapa

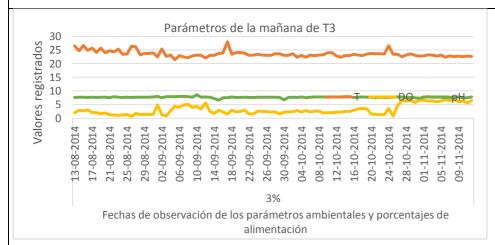


Figura 21. Parámetros ambientales de T (°C), DO (mg/L) y pH durante la observación de las mañanas en T3.

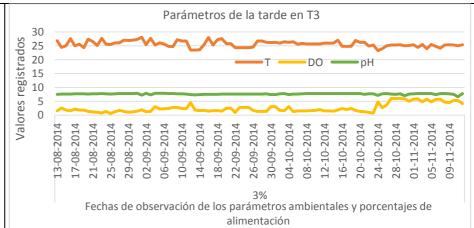


Figura 22. Parámetros ambientales de T (°C), DO (mg/L) y pH durante la observación de las tardes en T3.

Tabla 12. Correlación de Pearson y coeficiente de determinación entre el DO y el alimento suministrado en los tanques antes y durante la observación.

Correlación y coeficiente de determinación entre el alimento suministrado y el oxígeno disuelto (DO)

Observación	Tanques	Etapas del día	r de Pearson	r²
	T1	Mañana	,00	0
	• • •	Tarde	,00	0
Antes	To	Mañana	,00	0
	T2	Tarde	,00	0
	To	Mañana	,00	0
	Т3	Tarde	,00	0
	T1	Mañana	-,43**	0,18
	••	Tarde	-,16*	0,02
Durante	T2	Mañana	-,65**	0,41
	12	Tarde	-,72***	0,51
	Т2	Mañana	,19*	0,03
	Т3	Tarde	,11*	0,01

^{*} p<0.05

^{**} p<0.01

^{***} p<0.001

15. Simbología

Designación de tratamientos T1, T2 yT3

DO Oxígeno disuelto

EEI Especies exóticas invasoras

T Temperatura

Ups Unidades partes de salinidad

16. Glosario

DO.- El análisis de oxígeno disuelto mide la cantidad de oxígeno gaseoso disuelto (O2) en una solución acuosa. El oxígeno se introduce en el agua mediante difusión desde el aire que rodea la mezcla, por aeración (movimiento rápido) y como un producto de desecho de la fotosíntesis.

T.- La temperatura es una magnitud referida a las nociones comunes de calor medible mediante un termómetro.

UPS o PSU.- Por su sigla en inglés, (Practical Salinity Units), correspondiente a la relación entre la conductividad de una muestra de agua de mar y la de una solución estándar de KCl formado por 32,4356 gramos de sal disuelta en 1 kg de solución a 15 °C.

Simbiosis.- "la asociación física prolongada ante dos o más organismos<<distintamente denominados >>, generalmente de dos o más especies diferentes (...). La integración puede ser por metabolismo, por productos genéticos o genética. Los miembros de una misma simbiosis son simbiontes entre sí" (Margulis y Sagan, 2003 p279).

Microcosmos.- es un conjunto de abundantes microorganismos que están comunicados inter e intraespecíficamente, regulados por el Quorum sensing (autoinductores bacterianos) y bloqueados por el Quorum quenching que es la interrupción de señales del Quorum sensing por parte de las células eucariotas (March y Eiros, 2013), permitiendo mantener la simbiosis y autopoiesis, que vienen de una evolución común y que conforman un sistema perfecto, dinámico y continuo (Margulis y Sagan, 1995 & Maturana y Varela, 1980)

Macrocosmos.- El macrocosmos es el conjunto de células especializadas que se agrupan formando estructuras u organismos como las plantas, animales y hombre, estos a la vez pueden ser considerados microcosmos en relación con la tierra y los demás planetas (Margulis y Sagan, 2003).

Acoplamiento estructural.- Maturana y Varela, 1980 dice:

"La conservación de la organización de un sistema determinado estructuralmente en el medio en que existe, es n el una condición sine qua non de existencia. Es decir un sistema dinámico determinado estructuralmente existe solo mientras una dinámica estructural sede con conservación de su organización. Al mismo tiempo la conservación de la organización de un sistema dinámico determinado estructuralmente en el medio que existe exige que todas las interacciones sean perturbaciones, pues de lo contrario se desintegra con la primera interacción destructiva. Es decir la conservación de la organización de un sistema dinámico en un medio de interacciones exige la correspondencia estructural entre el sistema y su medio. Cuando esta correspondencia estructural se pierde, el sistema se desintegra. Esta correspondencia estructural entre el sistema y medio, que perdura mientras el sistema conserva su organización y a los llama acoplamiento estructural".

Disbiosis.- La disbiosis es el desbalance del equilibrio microbiano de la microbiota normal, debido a cambios cuantitativos o cualitativos de su composición, cambios en su funcionamiento o actividades metabólicas, o bien, a cambios en su distribución.

Meiobentos o meiofauna.- La meiofauna está compuesta por los pequeños animales que habitan entre los granos de arena y en los fangos. Se trata de pequeños invertebrados, que no superan 1 mm en la mayoría de los casos, y pueden llegar a medir 45 μm.

Quorum sensing (QS).- Es un mecanismo de comunicación entre células mediante el cual las bacterias son capaces de saber cuántas son a través de la producción y detección de la acumulación de una molécula de señalización que secretan a su entorno y así pueden conocer el momento en el que deben «actuar» para desarrollar sus funciones de la forma más eficaz (March y Eiros, 2013).

Quorum quenching.- Son los fenómenos de competencia entre diferentes especies microbianas por un nicho se produzcan fenómenos de inhibición de las señales de QS. De esta forma, se denomina quorum quenching a la interrupción de las señales de QS (March y Eiros, 2013).

IV. Presupuesto

Tabla 1. Precios en dólares de los equipos y de los materiales que se usaron durante la investigación sobre el proceso de elaboración, implementación y observación del biofloc en los cultivos de tilapias.

	Precios de los Equipos y materiales de la investigación en dólares americanos						
Elaboración de los tanques artesanales							
Plástico	40						
Malla metalica de 0.20 cm ²	100						
Caña guadua	30						
Malla sarán	70						
Equipo	os a utilizar						
Multiparámetro YSI	4500						
Blower	2500						
Bomba de agua	250						
Total	7490						

V. Cronograma

Tabla 2. Actividades que se ejecutaron en el proceso de elaboración, implementación y observación del biofloc en los cultivos de tilapias.

Actividades realizadas							
Instalación de los tanques	Enero del 2014						
Siembra de los alevines de tilapias	Abril del 2014						
	Todos los días hasta el fin de la						
Toma de parámetros	investigación desde las 6:00 y a las						
	16:00						
Análisis de poblaciones	Se comienza en marzo del 2014 y se						
Analisis de poblaciones	lo realiza cada 15 días						
	Se realizan al momento de la siembra						
	en el tanque S el 11 de marzo del						
	2014.						
	Después de tres meses en:						
Biometrías	T1 se realiza el 13 y 27 de agosto y el						
Biometrias	3 y 10 de septiembre						
	T2 se realiza el 13 y 27 de agosto y 10						
	de septiembre						
	T3 se realiza el 13 de agosto y 12 de						
	noviembre						
Procesamiento de los datos	Se realizó en el 2015 y 2016						
Elaboración del articulo	Se procedió a escribir desde el 2016						
LIADOTACION UEI AITICUIO	hasta 2017						

VI. Anexos sobre la elaboración del artículo



Figura 1. Proceso de extracción de los peces para proceder a realizar biometrías.



Figura 2. Realización de las biometrías.



Figura 3. Extracción de los tanques de los peces.



Figura 4. Toma de datos de los pesos y tallas de la biometría

Jonathan Proaño UTM