



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Cultivo en suspensión activa (Bioflocs): Una alternativa para la piscicultura urbana

Samir Benicio Bru Cordero

Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín

Facultad de Ciencias Agrarias

Departamento de Producción Animal

Medellín, Colombia

2016

Cultivo en suspensión activa (Bioflocs): Una alternativa para la piscicultura urbana

Samir Benicio Bru Cordero

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Magister en Ciencias Agrarias

Director (a):

Sandra Clemencia Pardo Carrasco, Ph.D.,

Línea de Investigación:

Producción animal

Grupos de Investigación:

Centro de investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba - CINPIC

Biodiversidad y Genética Molecular - "BIOGEM"

Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín

Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Producción Animal

Medellín, Colombia

2016

A mi esposa Lia Soraya y mi hijo Abraham Elías, motor de mi vida y motivo de este gran sacrificio, los amo.

A mi madre Tulia Esther por demostrarme que no hay prueba difícil si se tiene paciencia, ganas de vivir y una sonrisa.

A mi padre Gilberto, símbolo de disciplina y tesón, definitivamente no hay mejor herencia que la educación.

A mi hermano Osnamir Elías, quien siempre ha confiado en mí, y por tomarme como un ejemplo a seguir, espero nunca fallarle.

A todos mis familiares que lograron sembrar en mí la semilla de la responsabilidad, para salir adelante y montarme cada día en el bus de la vida.

Agradecimientos

A la Universidad de Córdoba por su apoyo financiando el proyecto de investigación titulado: Cultivo en suspensión activa (Bioflocs): Una alternativa para la piscicultura urbana Código 13 FMV-0211CIUC.

A la Doctora Sandra Pardo Carrasco PhD, por su apoyo, formación, compañerismo y paciencia en este proyecto académico.

Al profesor Víctor Atencio García MSc, por su aporte significativo a este trabajo, su concejo oportuno y orientación sincera, realmente una *machera china*

Al profesor Vicente Pertuz Buelvas MSc, por su apoyo, orientación y concejo pertinente en este proceso, sin duda un gran amigo

A la Doctora Adriana Vallejo Isaza PhD, por su colaboración y orientación en el proceso investigativo

Al Doctor Albeiro López y a los investigadores del Grupo de Biodiversidad y Genética Molecular – BIOGEM, Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín.

Al profesor Robinson Rosado Carcamo, Esp en Acuicultura, por su apoyo profesional y administración de recursos de una manera sencilla y comprensiva.

A Julia Eva Ayazo por su apoyo en la ejecución del proyecto, orientación a los estudiantes y trabajo incansable, gracias “Furia”.

Al grupo de estudiantes del programa de Acuicultura que desarrollaron sus trabajos de pregrado al interior del proyecto y que fueron pilar fundamental para la ejecución de este trabajo. Gracias a: Shirley Vargas Licona, Rosa González Alarcón, Miguel Guzmán Yance, Manuel Correa Martínez, Kelly Álvarez Suarez y John Carrascal Saldarriaga y Cesar Domínguez. Mil gracias

Resumen

La acuicultura es una de las actividades del sector pecuario de mayor crecimiento en los últimos años, donde se ha priorizado el uso eficiente de recursos y el manejo sostenible de la actividad, la creciente demanda de productos pesqueros y aumento de la población en casi 1,65 %/año ha obligado a intensificar los sistemas productivos y a la implementación de tecnologías amigables y eficientes. Dentro de estas alternativas de cultivo sostenible, se encuentran el cultivo de peces en sistemas biofloc (biofloc technology, sistema de suspensión activa o BFT), en el cual los nutrientes generados por el cultivo acuícola, pueden ser reciclados y reutilizados continuamente por parte de las comunidades de organismos presentes. De esta manera se plantea el cultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en sistema biofloc- BFT como alternativa de cultivo sostenible, alimentadas con dietas de origen vegetal, llevando a cabo la caracterización de los microorganismos presentes, el desempeño zootécnico de especies ícticas, análisis proximal de los macro agregado y su papel en el desempeño productivo del sistema. Sirviendo a investigadores e inversionistas como insumo para aplicar la técnica de cultivo en escenarios rurales, semi-urbanos y urbanos como alternativa para la producción eficiente de peces.

Palabras clave: Piscicultura; Tecnología biofloc (BFT), *Oreochromis niloticus*, *Piaractus brachypomus*

Abstract

Aquaculture is one of the activities of the fastest growing livestock sector in recent years, where the efficient use of resources and sustainable management of the activity, the growing demand for fishery products and increasing population is prioritized by almost 1.65 % / year forced to intensify production systems and the implementation of friendly and efficient technologies. Within these alternatives for sustainable farming, fish culture (biofloc technology, system activates or BFT suspension) biofloc systems, in which the nutrients generated by the system are, can be recycled and continuously reused by communities of organisms present. The cultural Cachama blanca and Nile tilapia in biofloc- BFT system as alternative sustainable farming, feeding them diets of plant origin arises and is essential to estimate information about the characterization of the microorganisms present, zootechnical performance of fish species, floc proximate analysis and its role in the productive system performance. Researchers and investors serving as an input to apply the technique of culture in urban and rural settings, as an alternative for the efficient production of fish.

Keywords: Fish farming, Biofloc technology (BFT), *Oreochromis niloticus*, *Piaractus brachypomus*

Contenido

| | Pág. |
|---|-------------|
| Resumen IX | |
| Lista de figuras..... | XIII |
| Lista de tablas | XIV |
| Lista de abreviaturas..... | XV |
| 1. Introducción | 1 |
| 2. Marco teórico | 2 |
| 2.1 El sistema biofloc..... | 2 |
| 2.2 El uso de biofloc en Acuicultura | 3 |
| 2.3 Características de la tilapia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i> | 4 |
| 2.4 Características de la cachama blanca <i>Piaractus brachypomus</i> | 5 |
| 2.5 Aspectos nutricionales del floc..... | 5 |
| 2.6 Microorganismos planctónicos del floc..... | 7 |
| 2.7 Comunidades bacterianas asociadas al floc | 9 |
| 3. Bibliografía | 10 |
| 4. Objetivos | 15 |
| 4.1 General..... | 15 |
| 4.2 Específicos | 15 |
| 5. Artículo 1. Desempeño productivo del cultivo de cachama blanca <i>Piaractus brachypomus</i>, tilapia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i>, alimentadas con proteína de origen vegetal y composición nutricional del biofloc..... | 17 |
| 5.1 Resumen | 17 |
| 5.2 Abstract | 18 |
| 5.3 Introducción | 18 |
| 5.4 Materiales y métodos..... | 19 |
| 5.5 Resultados..... | 22 |
| 5.6 Discusión | 26 |
| 5.7 Conclusión..... | 31 |
| 5.8 Bibliografía..... | 32 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 6. | Artículo 2. Caracterización de comunidades planctónicas y bacterias heterotróficas asociadas al cultivo de cachama blanca <i>Piaractus brachypomus</i> y tilapia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i> en sistema biofloc | 35 |
| 6.1 | Resumen..... | 35 |
| 6.2 | Abstract..... | 36 |
| 6.3 | Introducción..... | 36 |
| 6.4 | Materiales y métodos | 37 |
| 6.5 | Resultados | 39 |
| 6.6 | Discusión..... | 48 |
| 6.7 | Conclusión | 53 |
| 6.8 | Bibliografía | 54 |
| A. | Anexo: Alimento balanceado para tratamientos – composición proximal | 59 |
| B. | Anexo: Tasa de inclusión y formulación de las dietas elaboradas en el Laboratorio de Nutrición Acuícola de Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá..... | 61 |

Lista de figuras

| | Pág. |
|---|-------------|
| Figura 5-1: Unidades experimentales del bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica sistema biofloc. | 20 |
| Figura 5-2: Obtención de muestras de floc. a) conos Imhoff. b) tanque para cosecha. c) bolsa en malla 80 μm d) pool de muestras de floc. e) Secado al horno. f) floc seco | 21 |
| Figura 5-3: Variación de los compuestos nitrogenados durante la preparación del inóculo de floc | 22 |
| Figura 6-1: Abundancia relativa por grupos identificados durante el cultivo de cachama blanca <i>P. brachypomus</i> y tilapia nilótica <i>O. niloticus</i> , en sistema biofloc. Letras diferentes en la misma columna, indican diferencia significativa ($p>0.05$) | 42 |
| Figura 6-2: Densidad de bacterias heterotróficas (UFC. ml^{-1}) en función de la concentración de proteína bruta del alimento | 45 |
| Figura 6-3: Densidad de bacterias heterotróficas (UFC. ml^{-1}) en función del periodo de cultivo..... | 46 |
| Figura 6-4: Abundancia de bacterias heterotróficas (UFC. ml^{-1}) durante el periodo de cultivo en función del nivel de proteína..... | 46 |
| Figura 6-5: Dendrograma de similaridad entre los tratamientos y la presencia o ausencia de las bacterias en el floc. | 47 |
| Figura 6-6: Dendrograma de similaridad entre grupos bacterianos con respecto a los tratamientos en el floc | 47 |

Lista de tablas

| | Pág. |
|---|-------------|
| Tabla 5-1: Tratamientos y parámetros iniciales del experimento..... | 19 |
| Tabla 5-2: Valores promedio de parámetros físicos y químicos del agua durante el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica, en sistema biofloc. | 23 |
| Tabla 5-3: Variables zootécnicas evaluadas en el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en biofloc ¹ | 23 |
| Tabla 5-4: Variables productivas evaluadas en el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en biofloc ¹ | 24 |
| Tabla 5-5: Costos fijos y variables utilizados para estimar la producción de 1Kg de pescado en el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en sistema biofloc. | 25 |
| Tabla 6-1: Valores promedios de parámetros físicos y químicos del agua monitoreados durante el cultivo de cachama blanca <i>P. brachypomus</i> y tilapia nilótica <i>O. niloticus</i> , en sistema biofloc. Letras diferentes en la misma columna, indican diferencia significativa | 40 |
| Tabla 6-2: Identificación cualitativa de los microorganismos planctónicos asociados al establecimiento del inóculo de floc y al inicio del bicultivo de <i>Piaractus brachypomus</i> y <i>Oreochromis niloticus</i> en sistema biofloc. Presente (+), ausente (-). | 40 |
| Tabla 6-3: Valores promedio por grupo de microorganismos planctónicos (ind/mL) durante los cuatro meses de cultivo en biofloc para Cachama blanca <i>P. brachypomus</i> y Tilapia nilótica <i>O. niloticus</i> | 41 |
| Tabla 6-4: Índices ecológicos analizados en la caracterización e identificación de los microorganismos planctónicos asociadas al cultivo de cachama blanca <i>P. brachypomus</i> y Tilapia nilótica <i>O. niloticus</i> , en sistema biofloc..... | 43 |
| Tabla 6-5: Grupos bacterianos aislados en el cultivo de Cachama blanca <i>P. brachypomus</i> y Tilapia nilótica <i>O. niloticus</i> , en sistema biofloc..... | 44 |
| Tabla 6-6: Valores promedio (UFC.cm-2) de la densidad de colonias bacterianas entre tratamientos y el tiempo de cultivo en sistema de biofloc. | 44 |
| Tabla 6-7: Valores promedio de la abundancia de bacterias heterotróficas (UFC.ml-1) en el sistema de biofloc | 45 |

Lista de abreviaturas

Abreviaturas

| Abreviatura | Término |
|--------------------|-----------------------------------|
| BFT | Biofloc Technology |
| EE | Extracto Etéreo |
| FB | Fibra cruda |
| hp | Horse power |
| msnm | Metros sobre nivel del mar |
| PB | Proteína bruta |
| pH | Potencial hidrogeniónico |
| Lt | Longitud total |
| RAS | Recirculating aquaculture systems |
| Wt | Peso total |
| <i>UFC</i> | Unidades Formadoras de Colonia |

1. Introducción

Según la FAO (2014) la acuicultura se mantiene como uno de los sectores de producción de alimentos de más rápido crecimiento. Suministrando al mundo unos 158 millones de toneladas de pescado en 2012, de los cuales la producción acuícola aportó 60%. Se estima que la acuicultura continuará creciendo rápidamente a tasas entre 5 y 7% anual, con aumento constante de la producción y mejora de los canales de distribución; tratando de soportar el índice de crecimiento de la población mundial que se estima cerca del 1,6% anual.

El consumo *per cápita* promedio mundial de pescado pasó de 9,9 kg en el decenio de 1960 a 19,2 kg en 2012 (FAO, 2014); por lo que, ante la creciente expansión de la industria acuícola, se prevé un incremento de la producción, sin que esto involucre aumentar significativamente el uso de los recursos naturales básicos como agua y tierra, al tiempo que se proporciona una equitativa relación costo/beneficio para apoyar la sostenibilidad económica y social, así como la sostenibilidad ambiental (Avnimelech, 2009). En este sentido, el uso de prácticas ambientalmente amigables en la acuicultura, que minimicen los problemas de calidad de agua en los cultivos, reduzcan la cantidad de efluentes, con el uso mínimo de los recursos naturales (McIntosh et al., 2001; Avnimelech et al., 2008) es una necesidad imperiosa para la expansión de la actividad acuícola.

Dentro de estas alternativas de cultivo sostenible, se encuentran los cultivos en sistema biofloc (Sistema de suspensión activa o biofloc technology-BFT) considerado como una tecnología alternativa sostenible y eficaz (Crab et al. 2012); en la cual los nutrientes generados por el sistema, pueden ser reciclados y reutilizados continuamente, dándose en la columna de agua una interacción compleja entre la materia orgánica y microorganismos. En este sistema la productividad natural juega un papel importante en el reciclaje de nutrientes y mantenimiento de la calidad del agua, siendo necesario conocer la composición microbiológica adherida al floc para brindarle un manejo adecuado, maximizar sus efectos benéficos, tales como, la remoción de compuestos nitrogenados y la alimentación de los animales en cultivo (McIntosh et al. 2000; Ray et al. 2010). Es así que resulta fundamental caracterizar los microorganismos presentes en los sistemas biofloc, el desempeño zootécnico de especies piscícolas de interés comercial, el perfil bromatológico de los macro agregados y su papel en el desempeño productivo del sistema.

Por tanto, la meta es empalmar las ventajas que ofrece el sistema biofloc y las características zootécnicas de las principales especies ícticas en Colombia, como la tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* y cachama blanca *Piaractus brachypomus*, debido a su calidad y agradable sabor de su carne y amplia tolerancia a distintas condiciones ambientales; además de resistencia a las enfermedades y rapidez de crecimiento en cautiverio (FAO, 2012). El uso de esta tecnología para el desarrollo de cultivos como el de tilapia y cachama blanca, constituye una alternativa de producción encaminada hacia la sostenibilidad y desarrollo de la industria acuícola, proporcionando un método

relativamente eficaz para el tratamiento de los residuos originados por el exceso de nutrientes y mitigación del impacto ambiental por efecto de efluentes, constituyendo al mismo tiempo una fuente adicional de alimento para los peces en cultivo. Dada la necesidad de implementar sistemas intensivos de producción piscícola ambientalmente sostenible y económicamente rentable, se evaluó el bicultivo de Cachama blanca *Piaractus brachypomus* y Tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en sistema biofloc, alimentados con dietas de origen vegetal, así mismo caracterizar las comunidades planctónicas y bacterianas y estimar el perfil bromatológico del floc. La información generada se convierte en insumo fundamental dentro del desarrollo de la actividad piscícola intensiva en Colombia, de tal manera que sirva a inversionistas e investigadores interesados en que esta tecnología de cultivo sea aplicada eficientemente en espacios rurales, semi-urbanos y urbanos como fuente alternativa para la producción sostenible e eficiente de peces.

2. Marco teórico

2.1 El sistema biofloc

También conocido como tecnología biofloc (BFT, por sus siglas en inglés) fue desarrollado bajo el mismo principio que tienen las plantas de tratamiento de aguas servidas convencionales, está basado en las relaciones de óxido-reducción del ciclo del nitrógeno que consiste en el desarrollo de flóculos microbianos, con adecuada relación carbono-nitrógeno (adición de melaza, harina de yuca) en el agua, poco o nulo recambio y continua oxigenación (Avnimelech 2012; Emerenciano et al. 2013), aquí la microbiota crece a partir de las excretas de los organismos cultivados, transformándolas en productos orgánicos de menor complejidad que pueden ser consumidos por otros organismos y reintegrados a la cadena alimenticia (Avnimelech & Kochba, 2009; Emerenciano et al., 2012).

Avnimelech (2012), definió los floc, como el conglomerado de microorganismos que consisten principalmente en bacterias, zooplancton, protozoos y microalgas, que se agregan a la materia orgánica del sistema. El sistema BFT combina la remoción de los nutrientes del agua con la producción de biomasa microbiana, que puede ser usada *in situ* como alimento de los peces objeto de cultivo (De Schryver et al., 2008); se podría decir que, el sistema biofloc convierte el exceso de nutrientes en los sistemas acuícolas en biomasa microbiana que, a su vez, es consumida por los animales en cultivo (Ekasari et al. 2010).

Las consideraciones importantes para el diseño y operación de un sistema de crecimiento en suspensión activa, como también es conocida la BFT, incluyen el efecto de la temperatura, la aireación, el mezclado, la cantidad y calidad de la materia orgánica agregada, y los niveles de tolerancia de los peces al cultivo en altas densidades. Temperaturas tropicales (27–28°C) son ideales para mantener altas concentraciones de bacterias suspendidas en la columna de agua (Hargreaves, 2006). La BFT es una nueva perspectiva de producción en acuicultura súper-intensiva, que se desarrolla de manera dinámica en la actualidad, con la capacidad de enfrentar retos propios de esta actividad, como por ejemplo, el aumento de la biomasa en menos volumen de agua y al menor costo ambiental (Avnimelech, 2009).

La densidad de cultivo en estos sistemas implica altas tasas de alimentación, que se traducen en gran cantidad de materia orgánica. La materia orgánica debe mantenerse suspendida en la columna de agua mediante fuerte agitación, para impedir su sedimentación y favorecer su exposición a las bacterias anaeróbicas. Las bacterias heterotróficas 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 consecuentemente por nitritos (Ebeling et al., 2006). El BFT actúa como una trampa para la retención de nutrientes en los estanques, lo que disminuye costos de mantenimiento ya que sirve como complemento alimenticio de los organismos comerciales en cultivo, mejorando las tasas de aprovechamiento de los alimentos (Azim & Little, 2008).

2.2 El uso de biofloc en Acuicultura

Hace más de 30 años, Steve Serling descubrió el potencial de la tecnología biofloc en la cría de tilapia y desde entonces se han llevado a cabo múltiples estudios al respecto (Newman, 2011). Tanto en ambientes naturales como en sistemas acuícolas, los microorganismos desempeñan un papel fundamental como productores y consumidores de oxígeno disuelto, reciclando nutrientes y produciendo alimento para organismos mayores.

Ogello et al. (2014), realizaron una revisión detallada del uso de BFT en cultivo de tilapia, resaltando los resultados de Avnimelech et al. (1999), al evaluar tilapias alimentadas con una dieta control de 30% de proteína bruta y una dieta sólo a base de biofloc, no presentó diferencia significativa y concluyeron que la dieta a base de proteína microbiana puede ser utilizada con éxito en el alimento para diferentes especies de tilapia. Esta revisión destaca que los peces en BFT se alimentan constantemente, debido a que producción microbiana es un proceso continuo. Según Avnimelech (2009), la utilización de proteínas se eleva del 15-25% (estanques convencionales) a 45% en cultivos BFT, debido probablemente, al reciclaje de proteína.

Azim & Little (2008) evaluaron el uso de la tecnología biofloc en cultivo de Tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*, la producción neta de pescado fue 45% más alta en este sistema en comparación al control sin biofloc. Avnimelech (2007) evaluó la asimilación de los biofloc por parte de tilapias en cultivo y concluyó que puede ser una fuente potencial efectiva de alimento, contribuyendo con casi el 50% del requerimiento de proteína para esta especie.

Sierra-De la Rosa et al. (2009) Evaluaron el cultivo de Tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* y Tilapia roja *Oreochromis sp.*, en sistemas biofloc en agua marina y obtuvieron valores similares de crecimiento (500 g/226 días; 2.1 g/día), supervivencia (70%), con mejor factor de conversión alimenticia (1.5); sugieren que el cultivo de tilapia roja en aguas de alta salinidad y tecnología de biofloc es técnicamente factible en zonas áridas tropicales donde los recursos de agua dulce son escasos.

Kuhn et al. (2009, 2010) evaluaron el uso de biofloc como ingrediente para la alimentación de *Litopenaeus vannamei*, sugieren reemplazar la proteína de la harina de pescado y de soya e incrementar significativamente el crecimiento de juveniles de camarones. Fernández da Silva et al. (2008) señaló que es posible el levante y precría de camarones Peneidos a altas densidades (hasta 6000/m²), utilizando biopelícula y flóculos como fuente primordial de alimentación, con un significativo ahorro de alimento artificial y mejora sustancial de la calidad del agua de descarga.

Crab et al. (2010) probaron el uso de los flóculos como alimento para las post-larvas (PL) de camarón gigante de Malasia *Macrobrachium rosenbergii* camarón de agua dulce, cultivando en bioflocs en acetato, glicerol+Bacillus versus biofloc+glucosa, registrándose el mayor porcentaje de proteína con acetato, así mismo, mayor sobrevivencia (75%), permitiendo comprobar que los camarones se pueden alimentar solo de flóculos. Por su parte Poleo et al. (2011), evaluaron la tolerancia de la cachama blanca a altas densidades en sistemas de recirculación (RAS) durante un periodo de 192 días, a una densidad final de aproximadamente de 13 Kg/m², con conversión alimenticia de 1.5 concluyendo que la cachama blanca puede ser cultivada en sistemas cerrados con cero recambio de agua a altas densidades.

2.3 Características de la tilapia nilótica *Oreochromis niloticus*

Se conoce como tilapias a un grupo de peces de la familia Cichlidae, pertenecientes al orden Perciforme, oriundas del continente Africano. Dentro de ellas, se destaca la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) debido a su gran adaptabilidad a diferentes condiciones medioambientales. La tilapia nilótica, es uno de los peces más cultivados a nivel mundial en países tropicales y subtropicales (Poot et al., 2009). Posee cualidades de gran interés para la acuicultura, entre las cuales se destacan: crecimiento acelerado, tolerancia a altas densidades de siembra, resistencia a enfermedades y carne de amplia aceptación en el mercado (Kubitza, 2008).

Las tilapias cuentan con características deseables para la explotación comercial como buena adaptación a condiciones ambientales variables, buena conversión alimenticia y ganancia de peso, alta rusticidad. Ocupan bajo nivel trófico en la cadena alimenticia, se adaptan fácilmente al confinamiento, son tolerantes a bajos niveles de oxígeno, soportan amplio rango de pH y salinidad (Saavedra, 2006; Kubitza, 2011). Algunos registros demuestran que la especie se desempeña bien en pH entre 6.5 a 9.0, con dureza y alcalinidad total entre 50-350 y 100 a 200 mg/LCaCO₃ respectivamente (Saavedra, 2006).

La tilapia es una especie tropical que prefiere vivir en aguas someras, no sobrevive a temperaturas inferiores a 12°C ni superiores a 42°C, las temperaturas ideales de cultivo varían entre 26 - 32°C. Es de hábito omnívoro, lo que le permite aprovechar una amplia gama de alimentos (Sklan et al., 2004); pueden digerir eficientemente los carbohidratos dietéticos (Boscolo et al., 2002) y tiene una mayor capacidad para digerir proteína de origen vegetal.

El crecimiento y sobrevivencia de la tilapia se han reportado con valores óptimos de NH₃ entre 0.01 a 0.2mg/L, mientras que, valores cercanos a 2 mg/L se consideran críticos (Kubitza, 2011). Se considera como rango de tolerancia valores entre 0.6 a 2.0mg/L. Sin embargo, incrementos del valor de pH y temperatura aumentan la toxicidad del amonio. Los efectos tóxicos del amonio en los peces, están relacionados principalmente a la forma no ionizada (NH₃), debido a la facilidad con que esta molécula se difunde rápidamente por las branquias de los peces.

2.4 Características de la cachama blanca *Piaractus brachypomus*

Especie nativa de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas, es considerada como la especie de mayor potencial productivo y comercial en la piscicultura extensiva, semi intensiva e intensiva de aguas cálidas continentales de América tropical. Esto por su buen desempeño en crecimiento, resistente al manejo en cautiverio y alta docilidad (Mesa-Granda & Botero-Aguirre, 2007).

Esta especie comparte nicho ecológico con la cachama negra *Colossoma macropomum*, con la que tiene similitud en su forma, diferenciándose por su mayor altura y por poseer una gran espina en la base de la aleta dorsal. Alcanza la madurez sexual al tercer año de edad, con un peso que varía entre 2.5 a 3.0 Kg. Su hábito alimenticio es omnívoro, con tendencia a frutos y semillas; acepta sin problema el alimento artificial, demostrando ventajas zootécnicas como buena conversión alimenticia y periodos de ceba cortos (Vázquez-Torres, 2004).

Los cultivos de cachama se realizan de preferencia en aguas lénticas poco profundas siempre y cuando se mantengan los niveles deseables durante todo el ciclo. Según Saavedra (2006), los valores óptimos para el cultivo de cachama son: temperatura entre 28-30°C, pH entre 7.5 y 8, dureza total entre 60-80ppm y oxígeno disuelto mayor a 5mg/L; sin embargo, la cachama puede resistir concentraciones bajas de oxígeno por cortos periodos.

2.5 Aspectos nutricionales del floc

El sistema BFT, a pesar de poseer desventajas como alto costo en energía eléctrica, instalación y costos operacionales, ha demostrado que las especies en cultivo, en especial camarones, presentan mayores tasas de crecimiento debido a la ingesta de floc microbiano suspendido, esto permite que haya mejor aprovechamiento del alimento suplementario, y así, poder utilizar raciones con menor contenido proteico (Decamp et al., 2002). Las investigaciones demuestran que los floc formados en el sistema contienen un

favorable perfil de aminoácidos, vitaminas y minerales trazas en niveles que se incrementan en las dietas.

Ju et al., (2008) reportan las mayores tasas de sobrevivencia y crecimiento para organismos cultivados en sistemas BFT, asociadas a nutrientes específicos y sus efectos sobre la tasa de ingesta, digestibilidad, absorción, asimilación y salud de los animales. Además de mejorar la nutrición, el uso de biofloc como alimento puede disminuir los costos de producción, suprimir el uso de biofiltro, mejorar la calidad del agua, y a su vez puede reducir la necesidad de intercambios evitando la liberación de compuestos nitrogenados para el medio ambiente (McIntosh et al., 2001; Avnimelech 2007). Además, los flóculos contienen agentes probióticos y se ha demostrado que incrementan la actividad de varias enzimas que influyen en el crecimiento (Avnimelech, 2009). Aunque el uso de flóculos ha impactado positivamente el desarrollo de la acuicultura, no se recomienda su uso como única fuente de alimento, ya que existen algunos nutrientes esenciales que no se encuentran en ellos; por esta razón, se aconseja utilizar una combinación de flóculos y alimento artificial (Avnimelech, 2009).

La harina de pescado se considera un ingrediente esencial en la dieta de peces y camarones debido a su cantidad equilibrada de aminoácidos esenciales, ácidos grasos, vitaminas y minerales, además de su alta palatabilidad (Suárez et al., 2009). El crecimiento constante de la acuicultura y el consiguiente aumento de la demanda de harina de pescado ha provocado un aumento significativo de los precios en el alimento concentrado para peces en la última década (Duarte et al, 2009; FAO, 2009). Entonces el uso de flóculos para la producción de harina muestra cierta viabilidad como ingrediente sustituto de la harina de pescado, tanto para los parámetros de rendimiento, como para la supervivencia.

Kuhn et al. (2009) utilizó partículas de harina microbiana resultantes del cultivo de tilapia, logrando sustituir el 37% de la harina de pescado, consiguiendo rendimiento similar a las dietas con menores niveles de proteína. Sin embargo, el valor nutricional del floc microbiano para los animales de cultivo dependerá de su hábito alimenticio, así como de su capacidad para ingerir, digerir y asimilar las partículas en suspensión (Tabla 2-1) (Azim y Little, 2008).

Tabla 2-1: Composición bromatológica en base materia seca de flocs (Azim & Little, 2008)

| Fuente | PB (%) | Carb (%) | EE (%) | FB (%) | Cenizas (%) |
|---------------------------|-------------|----------|-----------|--------|-------------|
| McIntosh et al. (2000) | 43.00 | - | 12.5 | - | 26.5 |
| Tacón et al. (2002) | 31.20 | - | 2.6 | - | 28.2 |
| Soares (2004) | 12.0 - 42.0 | - | 2.0 - 8.0 | - | 22.0 - 46.0 |
| Emerenciano et al. (2006) | 30.40 | 29.10 | 0.47 | 0.83 | 39.20 |
| Wasielesky et al. (2006) | 31.07 | 23.59 | 0.49 | - | 44.85 |

2.6 Microorganismos planctónicos del floc

Los microorganismos desempeñan un papel fundamental como productores y consumidores de oxígeno disuelto, reciclando nutrientes y produciendo alimento para organismos mayores; tanto en ambientes naturales como en sistemas acuícolas. Sherr & Sherr (2000) consideran que los microorganismos pueden ser definidos como todos aquellos organismos unicelulares, tanto los procariontes autotróficos y heterotróficos (cianobacterias y bacterias), tal como los eucariontes autotróficos y heterotróficos (microalgas y protozoarios); De manera general, son considerados también como microorganismos todos aquellos que no pueden ser observados a simple vista, entre ellos se encuentran algunos pequeños metazoarios como rotíferos, nemátodos y formas larvales de organismos mayores, como los nauplios de crustáceos.

En sistemas de cultivos acuícolas, los microorganismos referidos anteriormente pueden tener efectos positivos y negativos. De manera positiva se destaca la eliminación de compuestos nitrogenados tóxicos como nitrógeno amoniacal, mejoramiento de la calidad del agua, degradación de restos de alimento no consumido, contribución nutricional y la remoción de nitrógeno de estanques acuícolas por organismos heterotróficos (Crab et al., 2007; De Schryver et al., 2008; Crab et al., 2010). Entre los efectos negativos podrían mencionarse las enfermedades causadas por bacterias y virus, la producción de nitrógeno amoniacal y el consumo excesivo de oxígeno (Horowitz & Horowitz, 2000).

Durante años, el papel que se atribuía a los microorganismos heterótrofos (especialmente bacterias), estuvo restringido a la degradación de la materia orgánica y el reciclaje de nutrientes. Sin embargo, la investigación científica moderna ha demostrado la importancia de estos microorganismos como una vía alternativa de la cadena alimentaria. Las bacterias heterotróficas son capaces de utilizar la materia orgánica disuelta (MOD) que es liberada durante la fotosíntesis (10-60%), transformándola en material orgánico particulado (MOP) que es aprovechado por organismos pertenecientes al zooplancton, haciendo disponible el carbono y nitrógeno de origen microbiano para los niveles tróficos superiores. Este fenómeno descrito por Azam et al. (1983) es conocido como microbial loop o bucle microbiano.

La biota planctónica libre en la columna de agua puede ser aprovechada por los organismos cultivados como fuente de alimento, de manera muy limitada. La mejor forma de aprovecharla es cuando está adherida a superficies fijas o flotantes, incluyendo el fondo y las paredes de los tanques o estanques, esta característica es definida como biopelículas (biofilms). Basado en lo anterior, se han diseñado estrategias para aprovechar a los microorganismos asociados a biopelículas o a bioflóculos (flóculos microbianos). Una biopelícula es definida como una comunidad de microorganismos, principalmente microalgas, bacterias, protozoarios y hongos, asociados a una matriz orgánica adherida a superficies sumergidas (Ramesh et al., 1999).

En ese sentido el concepto de bioflóculo se ajusta a lo anterior, solo que el sustrato en lugar de ser fijo, es flotante (salvado de trigo, paja, bagazo de caña entre otros). Según Whal (1989) un biofilm se forma sobre cualquier superficie húmeda, sigue un patrón de colonización similar al de los bioflóculos, en el cual pueden ser distinguidas cuatro fases: a) absorción de compuestos químicos disueltos (macromoléculas) a las superficies (proceso físico espontáneo); b) colonización bacteriana; c) colonización por eucariontes unicelulares y d) colonización por eucariontes multicelulares. Funcionalmente son

microcosmos donde ocurren al mismo tiempo actividades autotróficas y heterotróficas, con procesos de intercambio con el medio externo, estas características proporcionan una gran capacidad en la remoción de nutrientes (Okabe & Watanabe, 2000).

Los microorganismos planctónicos son considerados importantes en la transferencia de materia orgánica entre los niveles tróficos, aumentando la eficiencia de las cadenas alimentarias y contribuyendo a mantener la calidad del agua. Su importancia ha sido destacada por varios autores como Burford et al. (2004b), así como la contribución del material floculado, incluyendo microorganismos, para la alimentación de camarones y peces (Burford et al., 2004a).

Dentro de los microorganismos planctónicos de importancia en los sistemas de depuración de aguas residuales, y teniendo en cuenta la similitud que existe en el desarrollo de estos sistemas, se encuentran los protistas como organismos esenciales para el funcionamiento de un sistema de tratamiento de agua, al estar implicados en procesos de depredación sobre las poblaciones bacterianas; contribuyendo por un lado al mantenimiento de fases de crecimiento activo y, por otro lado, eliminando bacterias, incluidas aquellas patógenas presentes en el agua residual. Además, los protistas contribuyen a la formación de bioagregados y flóculos. Son precisamente estas características biológicas, y su relación con parámetros físico-químicos, las que han permitido señalar a diversos autores la importancia de estos organismos como bioindicadores de calidad de agua en estos sistemas (Estévez, 2010).

Serrano et al. (2008), evaluaron las comunidades de protistas asociadas a plantas con eliminación de nitrógeno considerando tres rangos de rendimiento: alto (100-85%), moderado (85-50%) y bajo (<50%); los autores determinaron al estudiar los porcentajes de aparición de las amebas en estas plantas de aguas residuales, las mismas se encontraban ampliamente representadas en sistemas con eliminación eficaz de nitrógeno; mientras que, a medida que disminuye el rendimiento disminuye también su frecuencia de aparición (tanto para las amebas desnudas como las testáceas especialmente las especies de *Arcella*). En cambio, los ciliados presentaron valores de abundancia más bajos en relación con flagelados y amebas en aquellas plantas de depuración de aguas residuales que presentan un rendimiento alto de eliminación de nitrógeno. La especie encontrada en los tres rangos de eliminación fue *Vorticella*.

Otras estrategias para incentivar el desarrollo de microorganismos en sistemas acuícolas, incluyen la adición de ciertos compuestos que pueden modificar la comunidad microbiana. Dimitroglou et al. (2009), reportaron que la adición de oligosacáridos puede modular la ecología microbiana y mejorar la morfología intestinal de la Trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*. Huang et al. (2010), utilizaron técnicas de restauración de la comunidad de protozoarios en estanques de cultivo del Pez mandarín *Synchiropus splendidus* tales como sustratos y preparaciones microbiológicas, incrementando el número de especies de protozoarios en los estanques al mismo tiempo que mejoraban la calidad del agua, disminuyendo los metabolitos nitrogenados.

2.7 Comunidades bacterianas asociadas al floc

Las bacterias son microorganismos unicelulares procariontes relativamente simples y, según la fuente de carbono, las bacterias se categorizan en autótrofos cuya única fuente de carbono es CO_2 y en los heterótrofos que son aquellos cuya fuente de carbono es la materia orgánica (Tortora et al., 2007). Los principales grupos bacterianos encontrados con mayor frecuencia en el ecosistema acuático son Bacilos Gram positivos esporulados como *Bacillus* spp., *B. cereus*. Bacilos Gram negativos de la familia Vibrionaceae (*Vibrio* spp, *Vibrio anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. cholera*, *Aeromonas* spp., *A. aerophyla*), familia Pseudomonadaceae (*Pseudomonas aeruginosa*, *A. fluorescens*, *Pseudomonas* spp), familia Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp.) cuando se trata de fuentes de agua con influencia antropogénica; Cocos Gram positivos Enterococos, estreptococos, estafilococos, cocobacilares cuando hay influencia de ganadería (Madigan et al., 2009).

Los organismos quimioautótrofos constituyen un grupo funcional de microorganismos que utilizan compuestos inorgánicos reducidos como fuente de energía y el CO_2 como fuente de carbono. En este grupo se incluye a especies de los géneros *Nitrobacter*, *Thiobacillus*, etc. (Petts, 2000). Según Cunha-Santino & Bianchini(2002), son conocidas también como litótrofas aquellas bacterias que sólo requieren sustancias inorgánicas sencillas como ácido sulfhídrico (H_2S), monóxido de azufre (SO), amonio no ionizado (NH_3), nitrito (NO_2^-), hierro (Fe), entre otros. Los microorganismos quimioheterótrofos (también conocidos como organotróficos), corresponden a aquellos que utilizan el compuesto químico como fuente de carbono; a su vez, este mismo, constituye su fuente de energía. La mayoría de los aerobios mesófilos y las bacterias patógenas se incluyen en esta categoría (Battle, 2000).

Las bacterias quimioheterótrofas exhiben importantes funciones dentro de los ecosistemas acuáticos como recicladores de la materia orgánica disuelta, para la obtención de los productos primarios. Las bacterias heterotróficas litotróficas tienen la capacidad de transformar sustancias inorgánicas en moléculas asimilables como nitrógeno libre, nitratos y sulfatos (Tortora et al., 2007). En la zona afótica de los cuerpos de agua, o donde hay una limitada disponibilidad de oxígeno disuelto, se desarrollan los microorganismos sulfito reductores y metanogénicos (Madigan et al., 2009). Sin embargo, cuando se trata de sistemas de Biofloc, la aireación artificial, supondrá la proliferación de los microorganismos dependientes del oxígeno principalmente (Timmons et al., 2002).

Para promover el crecimiento de colonias de bacterias heterotróficas se requiere la adición de fuentes de carbono para aumentar la degradación de nitrógeno (Schveitzer et al., 2013). En el sistema biofloc, la intervención se produce cuando están aumentando los niveles de amoníaco (NH_3) \Leftrightarrow amonio (NH_4^+) y nitrito (NO_2^-). Algunas bacterias heterótrofas todavía pueden obtener energía derivada de la luz (bacterias fotoheterótrofas) en combinación de compuestos orgánicos u oxidación de una o más sustancias orgánicas (bacterias quimio-heterótrofas) (Ratier & Pereira, 2013). La identificación bacteriana en ecosistemas acuáticos se realiza por medio de técnicas convencionales basadas en las características fenotípicas, puesto que su realización y costo los hace más asequible (Isenberg, 2004). Los esquemas tradicionales de identificación fenotípica bacteriana se basan en características observables de las bacterias, como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas. (Tortora et al., 2007).

3. Bibliografía

Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 1999. 176: 227- 235.

Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio- flocs technology ponds. *Aquaculture*. 2007; 264:140-147.

Avnimelech Y. *Biofloc technology: A practical guide book*. Baton Rouge: The World Aquaculture Society. 2009; 181p.

Avnimelech Y, Kochba M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ^{15}N tracing. *Aquaculture*. 2009, 287: 163-168.

Avnimelech Y. *Biofloc technology -a practical guide book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge. 2012. 272 p

Azam F, Fenchel T, Field J, Gray J, Meyer-Reil L, Thingstad F. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 1983; 10: 257-63.

Azim M, D Little. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*.2008; 283: 29-35.

Battle, J. Decomposition dynamics of aquatic macrophytes in the lower Atchafalaya, a large floodplain river. *Hydrobiologia*, 2000; 418:123-136.

Boscolo R, Hayashi C, Meurer F. Farinha de Varredura de Mandioca (*Manihot esculenta*) na Alimentação de Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *R. Bras. Zootec*. 2002. v.31, n.2, p.546-551

Burford M, Thompson P, McIntosh R, Bauman R, Pearson D. The contribution of flocculated material to shrimp *Litopenaeus vannamei*, nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 2004a; 232:525-37.

Burford M, Sellars M, Arnold S, Keys S, Crocos P, Preston NP. Contribution of the natural biota associated with substrates to the nutritional requirements of the post-larval shrimp, *Penaeus esculentus* (Haswell), in high-density rearing systems. *Aquac, Res*. 2004b; 35:508-15.

Crab R, Avnimelech Y, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*.2007; 270:1-14.

Crab R, Chielens B, Wille M, Bossier P, Verstraete W. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*.2010; 41: 559-567.

Crab R, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 2012; 351–56.

Crab R, Lambert A, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. *Journal of Applied Microbiology*.2010; 109:1643–9.

Cunha-Santino, M, Bianchini, I. Humic substance mineralization in a tropical oxbow lake (Sao Paulo, Brazil).*Hydrobiologia*. 2002. 468:33-43.

Decamp O, Conquest L., Forster I., Tacon AGJ. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production system: role of Eukaryotic microorganisms. C.S. Lee, P. O'Bryen (Eds.), *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*, World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 2002), pp. 79–86

De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*.2008; 277:125-137.

Dimitroglou A, Merrifield D, Moate R, Davies S, Spring P, Sweetman J, Bradley G. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Animal Sci* 2009; 87: 3226-34.

Duarte, C.M., Holmer, M., Olsen, Y., Soto, D., Marbà, N., Guiu, J., Black, K., Karakassis, I., 2009. Will the oceans help feed humanity *Bioscience* 59, 11.

Ebeling J, Timmons M, Bisogni J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 2006, 257:346–58.

Ekasari J, Crab R, Verstraete W. Primary Nutritional Content of Bio-Flocs Cultured with Different Organic Carbon Sources and Salinity. *HAYATI Journal of Biosciences*. 2010. 17 (3): 125-130.

Emerenciano M, Cuzon G. Arevalo, Gaxiola G. Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. *Aquaculture Research*. 2013; 45 (10): 1713-1726.

Emerenciano M, Gaxiola G, Cuzon G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry .*InTech*, cap 12, 2012. p. 301.

Estévez F. Descripción de microorganismos filamentosos. Características morfológicas y estructurales 2010; 1-13.

FAO. Fisheries and aquaculture information and statistics service. FAO: Roma; 2012

FAO. Estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014: oportunidades y desafíos. Roma. 2014. 253p.

FAO. Food and agriculture organization of the United Nations. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2008*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 2009. 196 pp.

Fernandez–Da Silva C, Ballester E, Monserrat J, Geracitano L, Wasielesky W, Abreu P. Contribution of the microorganisms to the biofilm nutritional quality: protein and lipids contents. *Aquacult. Nutr.* 2008; 14:507–14.

Hargreaves JA. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 2006; 34:344–63.

Horowitz S, Horowitz A. The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet on outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering.* 2000; 21:215-27.

Huang J, Lin W, Shi C, Wu S, Xu R. The effects of restoration techniques on protozoan communities in mandarin fish culture ponds, based on an artificial substrate. *Aquacult Int.* 2010; 18:339–48.

Isenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, American Society for Microbiology. Washinton DC: ASM Press; 2004. p. 3213-323.

Ju Z, Forster I, Conquest L, Dominy W, Kuo W, Horgen F. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research*, 2008, 39, 118-133

Kubitza F. Ajustes na nutricao e alimentacao das tilápias. *Panorama da Aquicultura.* 2006; 16(98): 15-24.

Kubitza F. Improving cross-company management performance with a collaborate project scorecards. *International Journal of Managing Projects in Business.*2008; 1(3): 368-386.

Kubitza, F. Criação de tilapias em sistemas com bioflocos sem renovação de agua. *Panorama da Aquicultura* 2011; (21) 125:14-23.

Kuhn D, Boardman G, Lawrence A, Marsh L, Flick G. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. *Aquaculture* 2009; 296:51-7.

Kuhn D, Lawrence A, Boardman G, Patnaik S, Marsh L, Flick G. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture.*2010; 303: 28–33.

Madigan, M., J. Martinko, P. Dunlap, D. Clark, D. Brock. *Biología de los Microorganismos.* Doceava edición. Ed. Pearson. España. 2009.

McIntosh B, Samocha T, Jones E, Lawrence A, Mckee D, Horowitz S, Horowitz A. The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet on outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering.* 2000. 21: 215-27.

McIntosh D, Somocha T, Jones E, Lawrence A, Horowitz S, Horowitz A. Effects of two commercially available low-protein diets (21% and 31%) on water and sediment quality, and on the production of *Litopenaeus vannamei* in an outdoor tank system with limited water discharge. *Aquacultural Engineering.* 2001. 25: 69–82

Mesa-Granda M, Botero-Aguirre M. La cachama blanca *Piaractus brachypomus*, una especie potencial para el mejoramiento genético. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2007; 20 (1): 79-86.

Newman S. Understanding biofloc in aquaculture production systems, *Aquaculture Asia Pacific Magazine*, 2011; 7(2):25-6.

Ogello E, Musa S, Mulanda C, Abwao J, Mbonge J. An Appraisal of the Feasibility of Tilapia Production in Ponds Using Biofloc Technology: A review. *International Journal of Aquatic Science* 2014; 5(1)21-39.

Okabe S, Watanabe Y. Structure and function of Growth culture evaluation of *Daphnia magna* feed with *Saccharomyces cerevisiae* enrichment with oat soy nitrifying biofilms as determined by in situ hybridization and the presence of microelectrodes. *Water Sci Technol*. 2000; 42:21-32.

Petts, G. A perspective on the abiotic processes sustaining the ecological integrity of running waters. *Hydrobiologia*. 2000; 422/423:15-27.

Poleo G, Aranbarrio J, Mendoza L, Romero O. Cultivo de cachama blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 2011; 46 (4): 429-437.

Poot A, Perez R, Vega M, Defeo O. Assessing patterns of ichthyofauna discarded by an artisanal shrimp fishery through selectivity experiments in a coastal lagoon. *Fisheries Research*. 2009; 97 (3): 155-162.

Ramesh M, Shankar K, Mohan C, Varghese T. Comparison of three plant substrates for enhancing carp growth through bacterial biofilm. *Aquacultural Engineering*, 1999; 19: 119-31.

Ratier B, Pereira D. Formação de Bioflóculos, Protótipo com Criação de Tilápias. *Universidade Federal do Paraná, Curitiba- Brasil*; 2013. p. 18-19.

Ray AJ, BL Lewis, CL Browdy & JW Leffler. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*. 2010; 299(1-4): 89-98

Saavedra M. Manejo del cultivo de tilapia. *Managua, Nicaragua* 2006; p 3-6.

Schveitzer R, Arantes R, Costódio P, Santo C, Vinatea L, Seiffert W et al. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*. 2013; 56: 59-70.

Serrano S, Arregui L, Perez-Uz B, Calvo P, Guinea A. Comunidades protistas asociados a plantas con eliminación de nitrógeno. *Asociación científica grupo bioindicación de Sevilla*. 2008: 1:1-4.

Sherr B, Sherr E, Marine microbes: an overview. En: Kirchman D. (Ed) *Microbial Ecology of the Oceans*. Wiley-Liss, New York; 2000:13-46.

Sierra-De la Rosa J, Martínez-Pardo X, Mendoza-Rivera M. Evaluación del cultivo de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) y tilapia roja (*Oreochromis sp*) en diferentes sistemas intensivos de granjas camaroneras como alternativa productiva en el sector camaronicultor colombiano. Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia – CENIACUA. 2009; 48.

Sklan D, Prag T, and Lupatsch I. Apparent digestibility coefficients of feed ingredients and their prediction in diets for tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus* (Teleostei, Cichlidae). *Aquaculture Research* 2004; 35:358-364.

Suárez, J.A., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, S., Garcia, G., Alanis, G., Suárez, A., Faillace, J., Cuzon, G. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*. 2009; 289, 118–123.

Timmons MB, Ebeling JM, Wheaton FW, Sommerfelt ST. Microbial biofloc and proteins levels in green tiger shrimp. Recirculation Aquaculture System, Caruga Aqua Ventures, New York, USA. 2002. 748 p

Tortora, G.J. Funke, B.R. Case, C.L. Introducción a la microbiología. Novena edición. Ed. Panamericana S.A. Madrid. España. 2007.

Vásquez-Torres W. Retrospectiva del cultivo de las cachamas en Colombia. II Congreso nacional de acuicultura. Universidad de los Llanos, Villavicencio; 2004; p. 71-73.

Whal M. Marine Epibiosis I. Fouling and antifouling; some basic aspects. *Mar Ecol Prog Ser*. 1989; 58:175-89.

4. Objetivos

4.1 General

Evaluar el cultivo de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en sistema de biofloc, alimentadas con tres niveles de proteína bruta de origen vegetal.

4.2 Específicos

- Evaluar el desempeño productivo del bicultivo de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en biofloc
- Establecer la composición nutricional del floc producido en el bicultivo de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en biofloc
- Caracterizar las comunidades planctónicas asociadas al bicultivo de Cachama blanca *Piaractus brachypomus* y Tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en un sistema biofloc.
- Determinar el efecto de la concentración de proteína (PB) sobre la comunidad de bacterias heterotróficas asociada al bicultivo de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en sistema de biofloc

5. Artículo 1. Desempeño productivo del cultivo de cachama blanca *Piaractus brachypomus*, tilapia nilótica *Oreochromis niloticus*, alimentadas con proteína de origen vegetal y composición nutricional del biofloc.

5.1 Resumen

El cultivo de cachama blanca *P. brachypomus* y tilapia nilótica *O. niloticus* en BFT se evaluó con dietas de diferentes niveles de proteína bruta de origen vegetal y se estimó la composición nutricional del floc en cultivo. Se sembraron 80 peces/m³ en proporción 1:1, alimentados con tres niveles de proteína bruta (PB) 16% (T16), 24% (T24) y 32% (T32) y mantenidos en tanques de 1000 L (volumen útil 800 L) durante 120 días con aireación permanente. Parámetros de crecimiento, productividad y costos de producción y el perfil bromatológico del floc fueron estimados. El oxígeno disuelto (OD) osciló entre 8.2 mg/L (T16, T32) y 8.5 mg/L, con saturación por encima de 100%. En cuanto a los valores de los compuestos nitrogenados, el NO₂ con rango de 0.4 a 0.5 mg/L, NO₃ (0.4 a 0.5 mg/L), NH₃ (0.2 a 0.3 mg/L) y TAN (2.2 a 2.4 mg/L). Se observó diferencia significativa ($p < 0.05$) en la ganancia de peso diaria (Gpd) tanto en cachama y tilapia; los peces de T24 presentaron la mayor ganancia 1.3±0.2 g/día (cachama blanca) y 0.7±0.1g/día (tilapia). El rendimiento promedio estuvo en 8.7±0.7Kg/m³ (T16) y 11.4±1.3Kg/m³ (T24) con diferencia significativa ($p > 0.05$). El tratamiento con mayor FCA fue T16 (1.6±0.5) y el menor se registró en T24 (0.9±0.3) con diferencia significativa ($p < 0.05$). Producir un (1) Kg de pescado en el sistema BFT oscila entre \$3148 (T24) y \$4445 (T32), el alimento representó el mayor costo (49.2 - 63.3%) y energía (10.3 - 14.2%). En cuanto al análisis proximal del floc los valores promedio de proteína cruda oscilaron entre 29.20±1,54 % (T24) y 36.03 ± 2,62% (T32), con diferencia significativa ($p < 0.05$). Los valores de variables físico-químicas del agua permitieron el establecimiento de una comunidad bacteriana y planctónica que contribuyó al mejoramiento de la calidad del agua del sistema. El efecto de la alta densidad de siembra (80 peces/m³) pudo haber incidido negativamente sobre el desempeño de la tilapia y la cachama. Es importante resaltar el bajo costo de producción estimado en T24, ya que se utilizó alimento experimental con proteína netamente de origen vegetal y aunque no se obtuvo el rendimiento esperado normalmente en estos sistemas de biofloc para la tilapia nilótica (20-40Kg/m³), los resultados permiten sugerir la viabilidad comercial que ofrece el sistema biofloc para la producción de carne de pescado trabajando con un alimento de 24% PB.

Palabras clave: Piscicultura, tecnología biofloc (BFT), costos de producción, bromatología, *Piaractus brachypomus*, *Oreochromis niloticus*

5.2 Abstract

The cultural of Cachama Blanca *Piaractus brachypomus* and Tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* in BFT fed diets containing different levels of vegetable protein and nutritional profile of floc was evaluated. 80 fish/m³ were sown in 1:1 ratio, fed three levels of crude protein (CP) of vegetable origin 16% (T16), 24% (T24) and 32% (T32) and kept in tanks 1000 L (useful volume 800 L) for 120 days with permanent aeration. They were estimated parameters of growth, productivity and production costs and floc bromatological profile. The dissolved oxygen (DO) ranged from 8.2 mg/L (T16, T32) and 8.5 mg/L, with saturation above 100%. As the values of the nitrogen compounds with NO₂ range 0.4 to 0.5 mg/L, NO₃ (0.4 to 0.5 mg/L), NH₃ (0.2 to 0.3 mg/L) and NAT (2.2 to 2.4 mg/L). Significant difference (p<0.05) was observed in daily weight gain (Gpd) for cachama and tilapia, where fish showed the highest gain T24 1.3±0.2 g/day (white cachama) and 0.7 ± 0.1g/day (tilapia). The average yield was 8.7±0.7 Kg/m³ (T16) and 11.4±1.3kg/m³ (T24) with a significant difference (p>0.05); Treatment most RCF was T16 (1.6±0.5) and the lowest was recorded in T24 (0.9 ± 0.3) with significant difference (p<0.05). Produce one (1) kg of fish in the BFT system ranges from \$3148 (T24) and \$4445 (T32), food accounted for the largest cost (49.2-63.3%), energy (10.3-14.2%) As for the proximal floc analysis of the average values of crude protein ranged in 29.20±1.54% (T24), and 36.03±2.62% (T32), with significant differences (p<0.05). The values of physic-chemical water variables allowed the establishment of a bacterial and planktonic community that contributes to improving the water quality of the system. The effect of high density planting (80 fish/m³) could have a negative impact on the performance of tilapia and cachama. It is important to highlight the low production cost estimated at T24, whereas experimental feed was used purely vegetable protein and although the yields are usually obtained in these systems biofloc for Nile tilapia (20-40 kg/m³ were not obtained), the results suggest the commercial viability offered by the biofloc system for the production of fish meat with a 24% working PB.

Keywords: Fish farming, biofloc technology (BFT), production costs, bromatology, *Piaractus brachypomus*, *Oreochromis niloticus*

5.3 Introducción

El Plan Nacional para el Desarrollo Sostenible de la Acuicultura en Colombia (PLANDAS) con el objetivo de incentivar la actividad acuícola en el país priorizó la investigación en tilapias y cachamas y la necesidad de elaborar dietas y establecer sistemas de cultivo eficientes para estas especies, buscando explotar el potencial y establecimiento del cultivo sostenible de estas especies debido a que en los últimos cinco años han aparecido signos de recesión de producción en Colombia, especialmente por los altos costos de producción, causado por los alimentos balanceados, los cuales representan alrededor de 70% del costo total (Merino *et al.*, 2013). En ese orden de ideas la tendencia del desarrollo de la piscicultura y el agravante de la escasez continua de agua, demandan un alto grado de eficiencia y tecnificación, esto conlleva a la implementación de tecnologías de cultivo que soporten altas densidades de siembra, mínima renovación de agua y aprovechamiento al máximo del alimento suministrado (Crab *et al.*, 2007); estas condiciones de cultivo ofrecerían una alternativa a problemas como el deterioro de la calidad del agua (causado por las altas concentraciones de metabolitos) y el poco aprovechamiento del alimento en los cultivos que utilizan una alta renovación de agua (Avnimelech, 2007). Esta ineficiencia está dada porque solo el 25% del nitrógeno suministrado en el alimento es asimilado por los peces y el 75% restante es excretado

principalmente en forma de amonio o urea y en menor medida en fracciones particuladas (heces y restos de alimentos) (Ebeling *et al.*, 2006).

Como una alternativa para el desarrollo del cultivo intensivo de tilapia nilótica y cachama blanca, está la implementación de la tecnología biofloc (BFT), la cual puede ser definida como un método de control de la calidad de agua con la ventaja adicional de producir proteína de origen bacteriano (flóculos bacterianos) y ser alimento *in situ* para los peces formados a partir de una alta relación carbono: nitrógeno en el agua, con poco o nulo recambio y alta aireación (Avnimelech, 2012; Crab *et al.*, 2012; Emerenciano *et al.*, 2013).

A pesar de que la tilapia y la cachama son cultivadas intensivamente (jaulas flotantes) en Colombia, no existe información sobre el desempeño de estas especies en BFT y considerando el costo que representa la alimentación en la producción piscícola se plantea como objetivo evaluar el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en BFT alimentadas con dietas de diferentes niveles de proteína bruta de origen vegetal; de igual manera conocer la composición nutricional del biofloc en cultivo.

5.4 Materiales y métodos

El estudio se realizó en el Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC) ubicado en Montería (Córdoba), ubicado en el municipio de Montería (Córdoba), con coordenadas geográficas de 8°48' de latitud Norte y 75° 22' de longitud Oeste, a una altitud de 15 m.s.n.m. y valores anuales promedio de temperatura, humedad relativa y precipitación de 27.5°C, 85% y 1100 mm, respectivamente. Se sembraron 80 peces/m³ en proporción 1:1 (Cachama:Tilapia) y se probaron tres dietas con diferentes niveles de proteína bruta (PB) de origen vegetal 16% (T16), 24% (T24) y 32% (T32) durante 120 días (Tabla 5-1). La formulación y preparación se realizó en el Laboratorio de Nutrición Acuícola de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá (Anexo A, B). Cada tratamiento fue evaluado por triplicado (n=3) en tanques plásticos de 1000 L (volumen útil 800 L), aireación mediante blower de 1 hp (HG-750-C2-China) y manguera polidifusora (Aero-tube, USA) (Figura 5-1). Se mantuvo la salinidad en 3 ppm.

Tabla 5-1: Tratamientos y parámetros iniciales del experimento.

| Tratamiento | Réplicas | Densidad (peces/m ³) | Días cultivo | Cachama blanca | | Tilapia nilótica | |
|--------------|----------|----------------------------------|--------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | | | | Wt inicial (g) | Lt inicial (cm) | Wt inicial (g) | Lt inicial (cm) |
| T16 (16% PB) | 3 | 80 | 120 | 35.2±1.1 | 12.3±0.2 | 4.4±0.3 | 6.3±0.2 |
| T24 (24% PB) | 3 | 80 | 120 | 39.2±1.6 | 12.7±0.1 | 4.5±0.1 | 6.3±0.1 |
| T32 (32% PB) | 3 | 80 | 120 | 33.4±0.9 | 12.1±0.1 | 4.1±0.4 | 6.1±0.2 |

Figura 5-1: Unidades experimentales del bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica sistema biofloc.



Los tanques se inocularon con biofloc preparado de acuerdo a las instrucciones de Lango (2012) tal cual fue descrito por Ayazo et al. (2014). Para la adición de melaza como fuente de carbono soluble se utilizó la ecuación propuesta por Kubitzka (2011): $Melaza (g) = (NT) * (Vol. H_2O) * (C:N)$; se mantuvo una relación carbono: nitrógeno (C:N) de 20:1.

Amonio, nitrito y nitrógeno total amoniacal (TAN) se midieron semanalmente con un espectrofotómetro (Espectronic, Genesys 5, USA). La alcalinidad y dureza se determinaron por el método de la fenolftaleína, utilizando reactivos HACH®, el oxígeno disuelto, pH y porcentaje de saturación, se midieron diariamente con un oxímetro digital (YSI, 550A, USA) y pH-metro (YSI, PH100, USA). Para determinar el volumen de floc se midieron los sólidos totales sedimentables (SST), en conos Imhoff.

Se realizaron biometrías mensuales al 50% de la población, la longitud total (Lt) se midió con ictiómetro y el peso total (Wt) con balanza eléctrica (OHAUS, 2000 g). Se estimaron parámetros de crecimiento como ganancia en peso (GP)=Pf-Pi; ganancia de peso diaria (Gpd)=GP/N° días cultivo; tasa específica de crecimiento en peso (G)=(LnPf-Ln Pi/N°días cultivo)*100; factor de condición (K)=(Wt/Lt^b)*100, donde b es el coeficiente de crecimiento (Weatherley 1972; Bagenal y Tesch 1978). Para la productividad del bicultivo se estimó: biomasa (B)=N° de peces*peso promedio, ganancia en biomasa (GB)= Bf-Bi, factor de conversión alimenticio (FCA)= Alimento suministrado/Ganancia en biomasa, sobrevivencia (S)=(N° final de peces/N° inicial de peces)*100. Se calculó el costo de producción por kilogramo de pescado, ajustado a las consideraciones productivas de la tabla 5-2.

Tabla 5-2. Valores establecidos para estimar los costos de producción del bicultivo¹

| Parámetro | Cantidad/capacidad |
|--|--------------------------------------|
| Blower | 1 HP |
| Volumen de agua en relación a la potencia del blower | 70 m ³ |
| Precio del alimento de 16% PB | \$1100/Kg |
| Precio del alimento de 24% PB | \$1537/Kg |
| Precio del alimento de 32% PB | \$2062/Kg |
| Mano de Obra | 1 obrero por cada 500 m ³ |
| Precio venta kilo de pescado | \$5,500 |
| Perdida por eviscerado | 12% |

¹Se realizó un balance entre los costos fijos y variables en virtud del precio de venta de la biomasa producida.

Las muestras de floc fueron tomadas mensualmente usando una malla 80 µm y un tanque sedimentador (50 l). Se retiró humedad en horno microondas (LG MS0748G/00; 700 W potencia) por ocho minutos y se secó al sol por 12 horas, se empacaron, rotularon y refrigeraron, y se analizaron en el Laboratorio de análisis químico y bromatológico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín, realizando un pool de floc por cada tratamiento (Figura 5-2).

Figura 5-2: Obtención de muestras de floc. a) conos Imhoff. b) tanque para cosecha. c) bolsa en malla 80 µm d) pool de muestras de floc. e) Secado al horno. f) floc seco



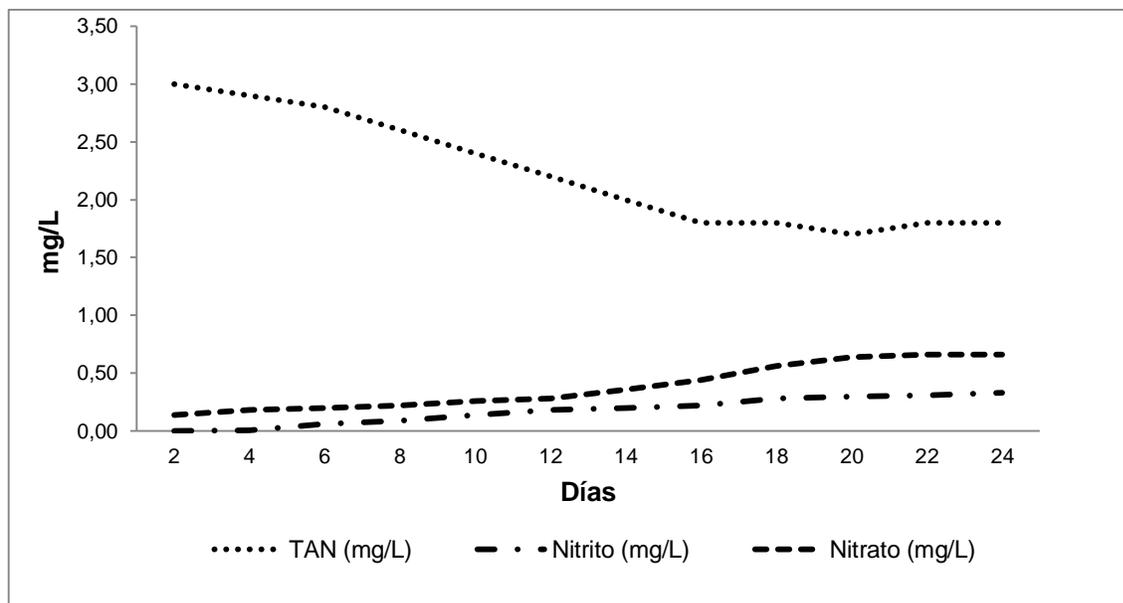
Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA). Las variables ganancia en peso (GP), ganancia en longitud (GL), ganancia diaria de peso, tasa de crecimiento específico (G), sobrevivencia (S), factor de conversión alimenticia (FCA), factor de condición (K), volumen del floc y su análisis proximal se sometieron a pruebas de normalidad (Test

Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianza (Levene's test). Una vez verificadas estas condiciones se aplicó ANOVA y cuando se presentaron diferencias entre los diferentes tratamientos se le aplicó una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey con significancia del 5%. El análisis fue realizado con ayuda del programa SAS versión 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2008).

5.5 Resultados

Aproximadamente a los 14 días se logró estabilización del floc y a los 24 días se consideró maduro y listo para ser inoculado cuando se evidenció la disminución del TAN. Los parámetros de calidad de agua indicaron que el TAN disminuyó de 3.0 ± 0.0 mg/L a 1.8 ± 0.9 mg/L, aumentó el nitrito de 0.002 ± 0.01 mg/L a 0.3 ± 0.4 mg/L y posteriormente aumentó el nitrato (0.7 ± 0.3 mg/L). Esta variación, indica la dinámica que deben seguir los productos nitrogenados en la estabilización y posterior maduración del inóculo de floc (Figuras 5-3). Parámetros de calidad de agua tales como oxígeno disuelto (8.2 ± 0.5 mg/L), alcalinidad (120.5 ± 2.4 mg/L), dureza (95.0 ± 0.8 mg/L), temperatura ($27.8 \pm 0.3^\circ\text{C}$) y pH (7.8 ± 0.3)

Figura 5-3: Variación de los compuestos nitrogenados durante la preparación del inóculo de floc



La tabla 5-3 muestra, los valores promedio y la desviación estándar (DS), de las variables de calidad de agua durante los cuatro meses del bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en sistema biofloc, en cada tratamiento evaluado. El oxígeno disuelto (OD) osciló entre 8.2 mg/L (T16, T32) y 8.5 mg/L, con saturación por encima de 100%, sin observarse diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los tratamientos evaluados.

Tabla 5-2: Valores promedio de parámetros físicos y químicos del agua durante el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica, en sistema biofloc.

| Parámetros | Tratamientos | | |
|---|------------------------|-------------------------|------------------------|
| | T16 | T24 | T32 |
| OD (mg/L) | 8.2±0.1 ^a | 8.2±0.1 ^a | 8.5±0.0 ^a |
| Saturación OD (%) | 103.2±0.5 ^a | 103.4±1.9 ^{ab} | 106.7±0.4 ^b |
| Temperatura (°C) | 27.3±0.0 ^a | 27.3±0.0 ^a | 27.4±0.0 ^a |
| pH | 7.7±0.0 ^a | 7.7±0.0 ^{ab} | 7.4±0.0 ^b |
| Alcalinidad total (mg CaCO ₃ /L) | 67.2±4.4 ^a | 60.5±2.8 ^a | 55.2±5.9 ^a |
| Dureza total (mg CaCO ₃ /L) | 200.9±5.1 ^a | 254.5±3.8 ^{ab} | 233.4±9.1 ^b |
| Nitrógeno total amoniacal (TAN, mg/L) | 2.4±1.1 ^a | 2.3±0.1 ^a | 2.2±0.0 ^a |
| Amonio no ionizado (NH ₃ , mg/L) | 0.3±0.0 ^a | 0.2±0.0 ^a | 0.3±0.0 ^a |
| Nitrito (NO ₂ , mg/L) | 0.4±0.0 ^a | 0.4±0.0 ^a | 0.5±0.0 ^a |
| Nitrato (NO ₃ , mg/L) | 0.4±0.0 ^a | 0.4±0.0 ^a | 0.5±0.1 ^a |
| Volumen de floc (ml/L) | 90.3±20.7 ^a | 56.3±9.7 ^b | 56.6±20.4 ^b |

En la ganancia en peso día (Gpd) tanto en cachama como en tilapia se observó diferencia significativa ($p < 0.05$); los peces de T24 presentaron la mayor ganancia de peso diario 1.3 ± 0.2 g/día (cachama) y 0.7 ± 0.1 g/día (tilapia). El factor de condición (K) no presentó diferencia significativa ($p > 0.05$) entre tratamientos evaluados (Tabla 5-3).

Tabla 5-3: Variables zootécnicas evaluadas en el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en biofloc¹.

| | Tilapia nilótica | | | Cachama blanca | | |
|--------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | T16 | T24 | T32 | T16 | T24 | T32 |
| Wi (g) | 4.4±0.7 ^a | 4.6±0.8 ^a | 4.1±1.0 ^a | 35.2±4.7 ^a | 39.3±9.8 ^a | 33.5±1.7 ^a |
| Wf (g) | 43.0±5.9 ^b | 87.9±12.7 ^a | 49.6±13.3 ^{ab} | 173.5±17.9 ^a | 196.2±20.0 ^a | 182.6±49.8 ^a |
| Li (cm) | 6.4±0.3 ^a | 6.2±0.1 ^a | 6.1±0.4 ^a | 12.3±0.7 ^a | 12.8±1.0 ^a | 12.1±0.2 ^a |
| Lf (cm) | 12.8±0.7 ^b | 15.8±0.8 ^a | 12.3±0.6 ^b | 20.4±0.6 ^a | 21.1±0.6 ^a | 20.8±1.7 ^a |
| Gpd (g/día) | 0.3±0.0 ^b | 0.7±0.1 ^a | 0.4±0.1 ^{ab} | 1.2±0.2 ^a | 1.3±0.2 ^a | 1.2±0.4 ^a |
| G(%/día) | 1.9±0.1 ^a | 2.5±0.2 ^a | 2.1±0.4 ^a | 1.3±0.1 ^a | 1.4±0.3 ^a | 1.4±0.2 ^a |
| K | 1.9±0.1 ^a | 1.9±0.2 ^a | 2.2±0.9 ^a | 1.9±0.1 ^a | 2.1±0.2 ^a | 1.9±0.0 ^a |

1. Los datos corresponden al promedio de tres repeticiones ± DS. Letras distintas en la fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). Peso inicial (Wi), peso final (Wf), longitud inicial (Li), longitud final (Lf), ganancia gramos día (Gpd), tasa específica de crecimiento en peso (G), factor de condición (K).

El rendimiento promedio del cultivo con rango de $8.7 \pm 0.7 \text{ Kg/m}^3$ (T16) y $11.4 \pm 1.3 \text{ Kg/m}^3$ (T24) sin observarse diferencia significativa ($P > 0.05$). El tratamiento con peor FCA fue T16 (1.6 ± 0.5) y el mejor se registró en T24 (0.9 ± 0.3) observándose diferencia significativa entre estos valores ($p < 0.05$) (Tabla 5-4).

Tabla 5-4: Variables productivas evaluadas en el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en biofloc¹

| Tilapia nilótica | | | |
|---------------------------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| | T16 | T24 | T32 |
| Bi (Kg) | 0.1 ± 0.0^a | 0.1 ± 0.0^a | 0.1 ± 0.0^a |
| Bf (Kg) | 1.4 ± 0.2^b | 2.8 ± 0.4^a | 1.6 ± 0.4^{ab} |
| GB (Kg) | 1.2 ± 0.2^b | 2.7 ± 0.4^a | 1.5 ± 0.4^{ab} |
| Rendimiento (Kg/m³) | 1.7 ± 0.2^b | 3.5 ± 0.5^a | 2.0 ± 0.5^{ab} |
| Sobrevivencia (%) | 100 ^a | 96.9 ± 3.1^a | 97.9 ± 3.6^a |
| Cachama blanca | | | |
| Bi (Kg) | 1.1 ± 0.1^a | 1.2 ± 0.3^a | 1.1 ± 0.6^a |
| Bf (Kg) | 5.5 ± 0.6^a | 6.3 ± 0.6^a | 5.8 ± 1.6^a |
| GB (Kg) | 4.4 ± 0.6^a | 5.0 ± 0.9^a | 4.8 ± 1.6^a |
| Rendimiento (Kg/m³) | 6.9 ± 0.7^a | 7.8 ± 0.8^a | 7.3 ± 2.0^a |
| Sobrevivencia (%) | 66.3 ± 57.7^a | 100 ^a | 99.0 ± 1.8^a |
| Ambas especies | | | |
| Bi (Kg) | 1.3 ± 0.1^a | 1.4 ± 0.3^a | 1.2 ± 0.1^a |
| Bf (Kg) | 6.9 ± 0.6^a | 9.1 ± 1.0^a | 7.4 ± 1.3^a |
| GB (Kg) | 5.7 ± 0.6^a | 7.5 ± 1.2^a | 6.2 ± 1.2^a |
| Rendimiento (Kg/m³) | 8.7 ± 0.7^b | 11.4 ± 1.3^a | 9.3 ± 1.6^{ab} |
| Consumo (Kg) | 9.0 ± 2.0^a | 6.3 ± 0.9^a | 7.2 ± 1.7^a |
| FCA | 1.6 ± 0.5^a | 0.9 ± 0.3^b | 1.2 ± 0.5^{ab} |
| Sobrevivencia (%) | 83.3 ± 28.9^a | 98.4 ± 1.6^a | 98.4 ± 2.7^a |

1. Los datos corresponden al promedio de tres repeticiones \pm DS. Letras distintas en la fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). Biomasa inicial (Bi), Biomasa final (Bf), ganancia en biomasa (GB), factor de conversión alimenticia (FCA).

De acuerdo con las estimaciones de los parámetros establecidos en el bicultivo, producir 1 Kg de pescado en el sistema BFT osciló entre \$3148 (T-24) y \$4445 (T32), en todos los casos, el alimento representó el mayor costo (49.2 - 63.3%), energía (10.3 - 14.2%), mientras que insumos y combustible, representó solo el 1% del total (Tabla 5-5).

Tabla 5-5: Costos fijos y variables utilizados para estimar la producción de 1Kg de pescado en el bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en sistema biofloc.

| | T16 | T24 | T32 |
|------------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| Costos Fijos | (%) | (%) | (%) |
| Personal | 15.8 | 15.6 | 11.5 |
| Prestaciones sociales | 5.7 | 5.6 | 4.1 |
| Energía | 14.2 | 14.0 | 10.3 |
| Depreciación equipos | 12.3 | 12.1 | 8.9 |
| Costos Variables | | | |
| Alimento balanceado (comercial) | 49.2 | 49.9 | 63.3 |
| Peces | 1.1 | 1.0 | 0.8 |
| Insumos | 1.1 | 1.1 | 0.8 |
| Combustible | 0.6 | 0.6 | 0.5 |
| Total costos (\$) | 2'178.665 | 2'210.698 | 3'012.113 |
| Rendimiento (Kg/m ³) | 8.7 | 11.4 | 11.0 |
| FCA | 1.6 | 0.9 | 1.2 |
| Biomasa (Kg en 70 m ³) | 535.9 | 702.4 | 677.6 |
| Valor Venta (\$) | 2'947.560 | 3'862.320 | 3'726.800 |
| COSTO PRODUCCION 1Kg | 4065* | 3148* | 4445* |
| | (1.59)** | (1.23)** | (1.74)** |

*COP= Pesos equivalentes colombianos

**USD= Dólar estadounidense (23 Junio 2015 - \$2250)

En cuanto al análisis proximal del floc los valores promedio de proteína cruda oscilaron entre 29.20±1,54 % (T24), y 36.03±2,62% (T32), observándose diferencia significativa entre tratamientos (p<0.05); el porcentaje de cenizas entre los diferentes tratamientos no presentó diferencia significativa (p>0.05), oscilando entre 15.78±3.91% (T32) y 21.47±6.53% (T24). Para fibra cruda el porcentaje osciló entre 8.35±2.72% (T32) y 10.28±1.89% (T16) no encontrándose diferencia significativa entre los tratamientos (p>0.05); en cuanto a grasas se presentaron valores entre 0.54±0.31% (T32) y 0.81±0.46% (T16), encontrándose diferencia significativas entre los tratamientos (p<0.05) (Tabla 5-7).

Tabla 5-7: Análisis proximal realizado al floc en el cultivo de cachama blanca y tilapia nilótica. Valores promedios±DS, n=3.

| TRATAMIENTO | PC% | CENIZAS% | FIBRA C% | GRASA% | HUMED% |
|-------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| T16 | 29.95±3.42 ^a | 18.35±8.6 ^a | 10.28±1.9 ^a | 0.81±0.5 ^a | 8.9±0.8 ^a |
| T24 | 29.20±1.54 ^a | 21.47±6.5 ^a | 9.63±3.0 ^a | 0.68±0.5 ^{ab} | 9.6±1.5 ^a |
| T32 | 36.03±2.62 ^b | 15.78±3.9 ^a | 8.35±2.7 ^a | 0.54±0.3 ^b | 9.88±1.6 ^a |

En todos los casos, el volumen de floc estuvo por encima de 25 mL/L, presentándose mayores valores en el T16 (119,9±49,9 mL/L), y menores en el T32 (36.1±3.8 mL/L) sin observarse diferencia significativa entre los tratamientos ($p>0.05$) (Tabla 5-8).

Tabla 5-8: Volumen de floc en cultivo de cachama blanca y tilapia nilótica. Valores promedio \pm DS, n=3. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p<0.05$).

| Tratamiento | Mes 1 (mL/L) | Mes 2 (mL/L) | Mes 3 (mL/L) | Mes 4 (mL/L) |
|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| T16 | 82,7±39,2 ^a | 71.7±16,5 ^a | 87.0±46,8 ^a | 119,9±49,9 ^a |
| T24 | 68.7±20,0 ^a | 57.5±9,8 ^a | 53.6±7,6 ^a | 78.4±39,3 ^a |
| T32 | 62.5±21,1 ^a | 36.1±3,8 ^a | 45.3±15,0 ^a | 82.4±41,4 ^a |

5.6 Discusión

El oxígeno disuelto en todos los tratamientos se mantuvo con valor promedio mayor a 8,4 mg/l y con altos porcentajes de saturación ($>100\%$); Kubitza (2011) sugirió que 70,5% de saturación es adecuada para cultivo comercial de tilapias en sistema biofloc. En BFT la aireación continua es esencial para mantener los niveles de oxígeno disuelto requeridos por los peces y microorganismos, ya que estos últimos se encargan de la eliminación de los compuestos nitrogenados, de la descomposición aeróbica de la materia orgánica y en algunos casos de la nitrificación, proceso en el cual se requiere aproximadamente 4 mg/l de O_2 y 8 mg/l de HCO_3 para la oxidación de 1 mg/l TAN (Azim & Little, 2008).

En el presente estudio la temperatura promedio (27,3°C) se mantuvo cerca al rango para el cultivo de Cachama y tilapia y para el desarrollo de las comunidades bacterianas; Hargreaves (2006) afirmó que temperaturas tropicales (27 a 28°C) son ideales para mantener una alta concentración de bacterias suspendidas en la columna de agua; lo cual garantiza una adecuada velocidad de reacción del proceso de remoción de compuestos nitrogenados (Lango 2012).

El pH se registró en un rango de 7,4 a 7,7 durante el bicultivo. Según Saavedra (2006), estas especies tropicales presentan buen crecimiento con rangos de pH entre 6,5 y 9,0. Por su parte, Poleo *et al.* (2011) reportan que la cachama blanca crece bien a altas densidades en sistemas cerrados (RAS y SCR) con pH de 7,6 y Kubitza (2011) sugiere pH entre 7,0 – 8,0 para cultivo de tilapia en BFT.

La dureza total (200,9 – 254,5 mg/l $CaCO_3$) se mantuvo con valores por encima de 200 mg/l $CaCO_3$. Kubitza (2011), sugirió que valores de dureza superiores a 150 mg/l $CaCO_3$ son tolerables para el desarrollo del cultivo de tilapias en sistemas BFT; mientras que, Poleo *et al.* (2011) reportan valores de 458,7 mg/L $CaCO_3$ en cultivos de cachama blanca a alta densidad sin efectos evidentes en el crecimiento. Sin embargo, los valores de dureza total reportados en el presente estudio son relativamente altos, por tanto se sugiere que pueden estar asociados a la acumulación de iones de sodio debido a la utilización de sal como medida preventiva para reducir la toxicidad del nitrito.

La alcalinidad registrada en este estudio (55,2–67,2 mg/l CaCO_3), se encontró en el límite inferior del rango recomendado (60-100 mg/l CaCO_3) por Kubitzka (2011) para sistema BFT; no obstante están dentro del rango de tolerancia de las especies de cultivo 60 a 150 mg/l (Saavedra 2006; Makino *et al.* 2009). Azim y Little (2008) al cultivar tilapia del Nilo en presencia (8-250 mg/L CaCO_3) y ausencia de floc (18-27 mg/L CaCO_3), los autores indican que los sistemas biofloc pierden su capacidad buffer, por lo tanto que requieren adiciones frecuentes de carbono, con el fin de estabilizar el sistema.

En sistemas intensivos con nulo recambio de agua las bacterias son agentes principales en el mantenimiento de la calidad del agua y lo hacen a través de dos categorías funcionales: La asimilación heterotrófica del amoníaco y la nitrificación quimio-autotrófica de las bacterias (Ebeling *et al.*, 2006; Hargreaves, 2006). La ruta heterotrófica elimina TAN de la columna de agua para construir proteínas celulares; mientras que las bacterias nitrificantes adquieren energía a través de las reacciones de oxidación de TAN a nitrito y luego a nitrato, así tanto la asimilación como la nitrificación consumen oxígeno y reducen alcalinidad. Ebeling *et al.* (2006) sugieren que para estos procesos autotróficos y heterotróficos se requieren hasta 7,14 g de CaCO_3 por gramo de nitrógeno amoniacal reducido a nitrato, para compensar y mantener niveles adecuados de alcalinidad. En este estudio se sugiere que la tendencia de la alcalinidad hacia valores bajos, es consecuencia del desdoble y aprovechamiento de compuestos nitrogenados.

Kubitzka (2011) reporta valor hasta de $12 \pm 0,0$ mg/l de TAN sin incidencia sobre el crecimiento de los peces. Aunque Poleo *et al.* (2011), afirman que niveles de NO_2 superiores a 0,28 mg/l pueden resultar perjudiciales para el crecimiento de cachama blanca; y para el caso de la tilapia Rakocy (1989) sugiere que, pueden comenzar a morir, cuando la concentración de NH_3 alcanza valores de 2 mg/L y el nitrito (NO_2) sobrepasa los 5 mg/L, sugiriendo que la toxicidad del amonio y nitrito varía con la especie, el tamaño y composición iónica del agua.

De esta manera, los valores de las variables físico-químicas del agua, analizadas a lo largo del cultivo de tilapia nilótica y cachama blanca en sistema biofloc permitieron el establecimiento de una comunidad bacteriana y planctónica que contribuyó significativamente a la calidad del agua del sistema y en cierto grado contribuyó al desempeño de los peces.

Los parámetros de crecimiento para la cachama blanca no registraron diferencia significativa entre tratamientos; Wf ($196,2 \pm 20,0$ g), Gpd ($1,3 \pm 0,2$ g/día) y G ($1,4 \pm 0,3$ %/día) registradas para el tratamiento T24, fueron los más altos, pero están por debajo de los reportados por Poleo *et al.* (2011) en sistema RAS quienes alcanzaron Wf de $446,5 \pm 10$ g, Gpd $2,33 \pm 0,03$ g, pero con una densidad menor (31 peces/ m^3 ; 60%) a la evaluada en este estudio. Granado (2000) afirmó que el aumento de la densidad trae como consecuencia la reducción del crecimiento, conduce a mayor competencia por espacio, alimento y alta generación de metabolitos que afectan la calidad del agua, los sistemas intensivos de producción (BFT y RAS) reducen dichas consecuencias; aun así el efecto de alta densidad de siembra (80 peces/ m^3) y la proporción pudo incidir negativamente sobre el desempeño en crecimiento.

La tilapia nilótica en sistemas de alta densidad manifiesta alto grado de adaptación y buen desempeño, debido a su tolerancia a amplios rangos de amonio, nitrito, temperatura y bajos niveles de oxígeno, características muy frecuentes en sistemas de producción intensivos (Díaz *et al.*, 2012). En el presente estudio, la mayor Gpd ($0,7$ g/día)

y G (2,5%/día) se presentaron en T24; con valores dos veces los registrados en T16. Azim y Little (2008) evaluaron el crecimiento de tilapia nilótica en BFT alimentando con 24% PB, reportando valores menores de G (0,39 %/día) y Gpd (0,46 g/día); al igual que Widanarni & Maryam (2012) reportan ganancia diaria de 0,52 g/día cuando evaluaron una densidad de 100 peces/m³.

El crecimiento de la tilapia podría estar asociado a la diferencia de tamaño entre especies, puesto que se sembró con peso siete veces menor al de la cachama blanca, lo cual ocasionó que esta última especie posiblemente desplazara a la tilapia nilótica en el momento de la alimentación. Esta situación concuerda con Gullian-Klanian y Aramburu-Adame (2013), quienes reportan crecimiento 31% menor en juveniles de tilapia nilótica en sistemas RAS cuando se observó alta variabilidad de talla; como consecuencia que los peces de mayor tamaño afectaron la alimentación a los de menor tamaño. En ese sentido, Widanarni y Maryam (2012) afirman que, al cultivar tilapia roja en biofloc a altas densidades (100 peces/m³) se da lugar a una mayor producción, pero la sobrevivencia y el crecimiento fueron menores. Esta situación puede ser asumida para este estudio donde el crecimiento de los peces en cultivo fue bajo.

Por otro lado, también se sugiere que el bajo desempeño podría estar asociado a un desbalance proteína energía en la dieta; Hernández *et al.* (2010), afirmaron que un exceso o deficiencia en este balance, resulta en un retraso en la tasa de crecimiento de los peces. Tacón *et al.* (2004) afirmaron que en general los peces tienen un requerimiento de energía digestible de 8 a 10 Kcal/g de proteína. Vásquez *et al.* (2012) registraron en juveniles de *Piaractus brachypomus* alimentados con dietas de 29,8% de PB y 2700 Kcal/g (relación de 9 Kcal/g de proteína) un mejor desempeño en crecimiento en esta especie. Escobar *et al.* (2006) evaluaron el efecto del nivel de energía y proteína en la dieta sobre el desempeño productivo de alevinos de *Oreochromis niloticus* y obtuvieron mejores crecimientos cuando la relación energía proteína estuvo en el rango de 8,25 y 9,42 Kcal/g de proteína. En el presente estudio la relación energía/proteína de las dietas experimentales evaluadas, estuvo en un rango de 8,5 (T3) a 17 (T1) Kcal/g; si se asocia el peso final de la tilapia nilótica para el T16 su bajo peso pudo estar asociado posiblemente al desbalance en la dieta; incluso para la cachama blanca el peso final del T16 fue el más bajo, aunque no presentó diferencia significativa con la registrada en los otros tratamientos. Para el T24, el cual obtuvo el mejor desempeño en peso con balance de 8,5 Kcal/g cercano a los reportados por Escobar *et al.* (2006); Tacón *et al.* (2004) y Vásquez *et al.* (2012) para peces omnívoros, confirman la posible incidencia en el crecimiento cuando se establece un adecuado balance proteína energía.

La productividad presentó diferencia estadística significativa entre tratamientos, se destaca el rendimiento obtenido en el tratamiento con 24% de PB (11,4 kg/m³); con un aporte del 68,5% (7,8 kg/m³) de la cachama blanca y 31,5% (3,5 kg/m³) de la tilapia nilótica; lo cual sugiere un incremento de aproximadamente siete veces la biomasa inicial; si se comparan los resultados de productividad total del cultivo del presente estudio (8,7 a 11,4 kg/m³), estos están ligeramente por debajo a los reportados por Poleo *et al.* (2011) para cachama (12,5 kg/m³) y Kubitz (2011) para tilapia (12,0 kg/m³) y muy debajo al reporte de Luo *et al.* (2014) para tilapia nilótica de 44,9 kg/m³ cultivada en BFT y RAS. Sin embargo, los resultados de productividad del presente estudio son superiores a los alcanzados por Azim y Little (2008), quienes reportaron rendimientos de 4,9 kg/m³ en la tilapia nilótica. Es importante resaltar que, aunque los rendimientos obtenidos en la presente investigación son relativamente bajos, comparado con algunos reportes, son valores más altos a los obtenidos en sistemas tradicionales (0,5 - 1 kg/m³) (Lango, 2012).

En cuanto al FCA de 0,9 en T24, Avnimelech (2007) afirmó que la cantidad de alimento adicionado al cultivo de BFT se puede ver reducido debido a la constante disponibilidad de flóculos bacterianos y productividad, los que potencialmente son aprovechados por los peces, estableciendo una reducción aproximada del 20% menos en los consumos de alimento concentrado; Por lo que se podría asociar esto al valor del FCA obtenido en el presente estudio. Azim y Little (2008), cuando evaluaron el desempeño de tilapia nilótica en BFT usando niveles de proteína de 24% PB y 35% PB, reportaron factores de conversión en el rango de 3,4 y 3,5, respectivamente y Widanarni y Maryam (2012) reportan conversiones entre 1,4 (25 tilapias/m³) y 2,0 (100 tilapias/m³), las cuales son conversiones menos eficientes cuando comparamos con los resultados obtenidos en la presente investigación.

Los porcentajes de sobrevivencia entre tratamientos no mostraron diferencia significativa (>80%); la cual podría considerarse alta y dentro de los valores reportados por otros estudios en sistemas intensivos. Poleo *et al.* (2011) en sistemas superintensivos de cachama blanca reportó alta sobrevivencia para la cachama blanca (92±7%); Azim y Little (2008) registraron sobrevivencia de 100% en cultivo de tilapia nilótica en este mismo sistema, de igual forma Luo *et al.* (2014) al comparar el desempeño de tilapia nilótica en sistemas BFT y RAS, reportaron sobrevivencia del 100% en ambos sistemas. Los resultados de sobrevivencia del presente estudio se sugieren como consecuencia del bienestar y adaptación de los animales al sistema de cultivo, lo cual es respaldado por el factor de condición obtenido.

El costo de producción más bajo estimado se presentó en T24 (\$3148/kg), mientras que T32 mostró un mayor valor (\$4445/kg), estos resultados están asociados al excelente comportamiento del FCA y rendimiento en kg/m³ en T24. Según el estudio de prospectiva tecnológica de la cadena colombiana de la tilapia en Colombia (Usgame *et al.* 2008) cuesta en promedio \$3650 producir 1 kg de tilapia, valor que está por encima del costo de producción estimado en T24.

De acuerdo con la representación porcentual del total de costos, el alimento representó el mayor costo (>49%); aunque Kubitzka (2011) reportó la compra de juveniles como el ítem de mayor costo (46%) por encima del costo alimento (37%). El sistema BFT se caracteriza por una dependencia directa de la energía eléctrica, puesto que demanda un eficiente sistema de aireación que garantice una adecuada estabilización y desarrollo de un ambiente favorable para el bienestar de los animales del cultivo y mantenimiento del sistema. En el presente estudio este ítem representó entre 10,3-14,2% de los costos, resultado muy cercano al obtenido por Kubitzka (2011), quien reportó valores del 15% y consideró que los costos pueden variar según las condiciones de cada piscicultura y los precios regionales de cada país.

Es importante resaltar el bajo costo de producción estimado en T24, al considerar que se utilizó alimento experimental con proteína netamente de origen vegetal y, aunque no se obtuvo los rendimientos que normalmente se consiguen en estos sistemas para cultivo de tilapia nilótica (20-40 kg/m³), los resultados permiten sugerir la viabilidad comercial que ofrece el sistema biofloc en la producción de carne de pescado y los costos se diluyen debido a los altos rendimientos.

El análisis proximal de los flóculos obtenidos mostró que la proteína cruda, osciló entre 29,2 (T24) y 36,0% (T32), mientras que los lípidos crudos entre 0,6 (T32) y 0,8% (T16), niveles que se encuentran por debajo de los registrados por Widanarni y Maryam (2012)

en cultivo de tilapia nilótica reportaron flóculos con proteína entre 39 y 48% y lípidos crudos entre 12,6 y 43,3%, con suministro de alimento comercial del 32% PB. Sin embargo, los resultados del presente estudio son parecidos a los reportados por Luo *et al.* (2014) quienes encontraron flóculos con 30,9% de PC y 1,3% lípidos en un cultivo de tilapia nilótica alimentado con concentrado comercial del 43,6% PC y 6,5% de lípidos, además estos autores consideraron, que las tilapias cultivadas en BFT, presentaron mejor FCA (1,2) que las cultivadas en RAS (1,5), gracias al aporte proteico del floc bacteriano. Comparando los resultados de estas investigaciones se infiere que aportar mayor cantidad de proteína en el alimento no garantiza mayores niveles en el floc, ya que estos dependen de la composición biológica del mismo (Azim y Little 2008; Ju *et al.* 2008).

Sabry *et al.* (2015) indicaron que el exceso de proteína en los flóculos, puede estar asociado al suministro de fuentes de nitrógeno no proteico (urea, cloruro de amonio, nitrato de amonio, etc.) utilizados en la activación del biofloc, incidiendo negativamente en el valor biológico de esta proteína. En este estudio, el inóculo del floc, formado a partir de cloruro de amonio presentó 21,6% de PB, pero el floc de T16 mostró solo 17,7% de PB, sin evidenciarse el efecto aditivo antes mencionado. Contrario a esto, altos niveles de lípidos se pueden presentar en el floc cuando lo integran organismos como diatomeas principalmente (Widanarni y Maryam, 2012).

De Schryver y Verstraete (2009) sugirieron que el nivel de ceniza de los flóculos bacterianos depende la fuente carbono empleado para el control del amonio. Widanarni Maryam (2012) reportaron ceniza entre 25,1 y 28,7% utilizando melaza, mientras que Hussain *et al.* (2014) suministrando harina de maíz y arroz, encontraron 18% de ceniza en flóculos bacterianos. Los valores de ceniza (15,8 y 21,5%) encontrados en este estudio, son parecidos a los reportados usando melaza y harinas, pero difieren de flóculos formados a partir de glucosa donde el nivel de ceniza no superó el 6% (Long *et al.*, 2015). Sin embargo, los valores de ceniza reportados, podrían estar influenciados por los niveles de ceniza contenidos en el alimento empleado (5,5, 11,5 y 8,3%) y al inóculo del floc (8,8%).

Azim y Little (2008) en un estudio donde aportaron alimento con fibra de 2,8 y 2,3% recolectaron floc con 3,8 y 4,0% de fibra cruda, es decir 1,3 veces más del contenido en el alimento. Por su parte Widanarni y Maryam (2012) cuando evaluaron el floc producido en un cultivo de tilapias a diferentes densidades, encontraron que el nivel de fibra fue mayor conforme al incremento en la densidad de peces, así, para el tratamiento de 25 peces/m³ el floc presentó 3,7% de FC, mientras que en los tratamientos de 100 peces/m³ fue de 4,5% de FC. Los valores de fibra cruda registrados en este trabajo (8,4 y 10,3%) son mayores a los reportados por los anteriores autores y, aun cuando el alimento suministrado fue de origen vegetal, estos no contenían altos niveles de fibra (3,5, 3,9 y 2,9%); sin embargo, los resultados fueron 2,6 veces mayores a la inclusión en el alimento, esto sugiere que, al no ser degradada, la fibra sufre un efecto acumulativo en los agregados del floc considerando el tiempo de cultivo.

Millamena (2002) sugiere que, para el caso de ceniza, niveles aceptables dependen del hábito alimenticio de la especie pero que en general debe ser menor al 13%, mientras que la fibra no debe superar el 9,0% para peces omnívoros (Lanna *et al.* 2004). De acuerdo con lo anterior, se infiere que el floc del presente estudio presenta características nutricionales ideales para las tilapias, considerando que éstas requieren proteína entre 25 y 30%, así como lípidos entre 5 y 12% (Chou y Shiau 1996). Así, el floc

evaluado en el presente estudio, presentó niveles de proteína cruda adecuados para la fase de engorde de tilapia, más no mostro niveles de lípidos crudos requeridos por la especie.

Hussain *et al.* (2014) mencionan que la proteína microbiana podría sustituir a la harina de pescado u otras fuentes de proteínas en la alimentación de peces y camarones, debido a su buen valor nutricional, al evaluar diferentes fuentes de nutrientes para producir biofloc en agua dulce y salada, encontrando valores de 39 y 41% respetivamente sin encontrar diferencias significativa. Valores que se encuentran por encima de los reportados en este estudio.

Azim y Little (2008) realizaron estudios en Tilapia del Nilo con crecimiento 45% mayor para los tanques con BFT comparados con sistema de recirculación de agua (RAS), confirmando la utilización de los flóculos como alimento por parte de los peces. Estos autores señalaron no haber encontrado diferencias significativas en términos nutricionales entre los tratamientos de BFT cuyos alimentos tenían niveles 35% y 24% de proteína cruda; lo cual sugiere que, la calidad de los flóculos es independiente a la calidad del alimento.

La concentración de volumen de floc o sólidos sedimentables totales (SST) es el resultado del crecimiento microbiano, restos de ración no ingerida y heces de animales (Melo Filho, 2013). En el presente estudio los SST fueron aumentando en todos los tratamientos al transcurrir el tiempo de cultivo, oscilando entre $119,9 \pm 49,9$ (T16) y $36,1 \pm 3,8$ (T32) sin encontrarse diferencia significativa entre estos. El exceso de SST en cultivos superintensivos puede perjudicar a los peces, bloqueando las branquias dificultando su respiración, también puede afectar el consumo de alimento, así como disminuir los niveles de oxígeno en el agua. Al respecto, Avnimelech (2007), sugirió que los valores ideales de sólidos sedimentables en cultivo de tilapias en sistemas biofloc deben mantenerse entre 20 y 30 ml/l, valores por encima de estos pueden causar dificultades respiratorias, afectando la ingesta de alimento; sin embargo, se sugiere que el desempeño del crecimiento en el presente estudio no fue afectado por los volúmenes de floc registrados, ya que los valores de oxígeno disuelto y la saturación del mismo mantuvieron valores altos (8,0 mg/l y 103%). Furtado *et al.* (2011) recomendaron un volumen de floc en el rango de 67-100 ml/l para el adecuado desarrollo de camarones.

En el presente estudio, a pesar que se realizaron cosechas de floc de manera periódica, se observó que los volúmenes de floc se mantuvieron altos durante todo el cultivo, especialmente en T16 ($90,3 \pm 20,7$ ml/l), sugiriéndose como consecuencia de la adición de carbono soluble (melaza) y la composición de la dieta empleada en el experimento, T16% contenía mayor porcentaje de almidón (35,2%) a razón de 1,4 (T24) y 1,6 veces (T32) más que los otros tratamientos.

5.7 Conclusión

Las especies en cultivo registraron su mejor crecimiento cuando fueron alimentadas con dieta de 24% de PB de origen vegetal. Se puede alcanzar rendimientos hasta de 11,4 kg/m³ (T24%) y sobrevivencias mayores al 80% al establecer el bicultivo de cachama y tilapia bajo las condiciones experimentales establecidas y se estima un costo mínimo de producción por kg de pescado de \$3148 (T24%).

5.8 Bibliografía

Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 2007; 264:140-147.

Avnimelech Y. *Biofloc technology - a practical guide book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge. 2012. 272 p

Ayazo-Genes JE, Pertuz-Buelvas VM, Bru-Cordero SB, Atencio-García VJ, Pardo-Carrasco SC. Ensayos preliminares en la preparación y estabilización de un inóculo de biofloc para cultivo de peces. En: VI Congreso Colombiano de Acuicultura. Octubre 8-10, Villavicencio, Colombia, 2014. p. 57.

Azim M, D Little. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 2008; 283: 29-35.

Bagenal TB, Tesch FW Age and growth. In: Bagenal T (Ed), *Methods for assessment of fish production in fresh waters*, 3rd ed. IBP Handbook No 3, Blackwell Science Publications, Oxford. 1978. 101-136.

Chou B.S, Shiau S.Y. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 143 (2) (1996), pp. 185–195

Crab R, Avnimelech Y, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*. 2007; 270:1-14.

Crab R, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*. 2012; 351–56.

De Schryver P, Verstraete W. Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*. 2009. 100:1162-1167.

Díaz M, Alva R, Veneros B, Dávila F, Lujan L, Plasencia W, Mendozá. Cultivo semi-intensivo de tilapia, *Oreochromis niloticus*, en estanques de concreto en el caserío Palo Blanco (Cascas, La Libertad-Perú). *REBIOL*. 2012. 32(2): 99-107.

Ebeling J, Timmons M, Bisogni J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 2006, 257:346–58.

Emerenciano M, Cuzon G, Arevalo, Gaxiola G. Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. *Aquaculture Research*. 2013; 45 (10): 1713-1726.

Escobar J, Del rosario V, Landinez M. Efecto del nivel de energía y proteína en la dieta sobre el desempeño productivo de alevinos de *Oreochromis niloticus*, variedad chitralada. *Revista de Medicina Veterinaria*. 2006; 12: 89-97.

Furtado P, Poersch L, Wasielesky W. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zotechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*. 2011; 321: 130-35.

Gullian-Klanian M., Aramburu-Adame C. Performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings in a hyper-intensive recirculating aquaculture system with low water exchange. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 2013.41(1):150-162.

Hargreaves A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 2006; 34:344–63.

Hernández G, Gonzales J; Alfonso E, Salmeron Y, Pizzani P. Efecto de la relación energía proteína sobre el desempeño productivo en larvas de Coporo (*Prochilodus mariae*). *Zootecnia Tropical*. 2010; 28 (2): 173-182.

Hussain, A. S., Mohammad, D. A., Ali, E. M., & Sallam, W. S. Nutrient Optimization for the Production of Microbial Flocs in Suspended Growth Bioreactors. *JOURNAL OF THE ARABIAN AQUACULTURE SOCIETY*. 2014. Vol 9 : 1. 8p

Ju, Z. Y., Forster, I., Conquest, L., & Dominy, W. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition*, 2008. 14(6), 533-543.

Kubitza, F. Criação de tilapias em sistemas com bioflocos sem renovação de água. *Panorama da Aquicultura*. 2011; (21) 125:14-23.

Lango J. Floc bacteriano: producción comercial de tilapia en sistemas cerrados. Caso México. Presentado en FISH RAPCO. Jalisco, México. 2012.

Lanna, E, Pezzato L, Furuya W, Vicentini, C, Cecon P, Barros, M. Fibra bruta e óleo em dietas práticas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2004. 33(6): 2177-2185.

Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., & Wu, F. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 2015. 448, 135-141.

Luo, G., Gao, Q., Wang, C., Liu, W., Sun, D., Li, L., & Tan, H. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*, 2014. 422, 1-7.

Makino M, Matsuda H. Sakurai Y. Expanding fisheries co-management to ecosystem-based management: A case in the Shiretoko World Natural Heritage area, Japan. *Marine Policy*. 2009; 33:207-214.

Melo- Filho M. Aplicação dos processos de nitrificação e desnitrificação em um sistema de reuso direto planejado da água para cultivo superintensivo de camarão marinho. *Trabalhos de Grado*. Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis-Brazil; 2013.

Merino M.C., S.P. Bonilla, F. Bages. Diagnóstico del estado de la Acuicultura en Colombia. Bogotá: Autoridad Nacional de Pesca y Acuicultura. 2013. 160pp.

Millamena O. Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*. 2002. 204: 75–84

Poleo G, Aranbarrio J, Mendoza L, Romero O. Cultivo de cachama blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 2011; 46 (4): 429-437.

Rakocy J.E. Hydroponic lettuce production in a recirculating fish culture system. University of the Virgin Islands, Agricultural Experiment Station, Island Perspectives. 1989. 3:4-10.

Saavedra M. Manejo del cultivo de tilapia. Managua, Nicaragua 2006; p 3-6.

Sabry Neto, H., Santaella, S. T., & Nunes, A. J. P. Bioavailability of crude protein and lipid from biofloc meals produced in an activated sludge system for white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2015. 44(8), 269-275.

Tacon A, Cody J, Conquest L, Divakaran S, Forster L, Decamp O. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquacult. Nutr.* 2004; 8: 121-137.

Usgame D, Usgame G, Valverde C. Agenda productiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la tilapia. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá, Proyecto estudio de prospectiva tecnológica de la cadena colombiana de la tilapia. 2008. 95p.

Vásquez W, Hernández G, Gutiérrez M, Yossa M. Efecto del nivel de proteína sobre el crecimiento y parámetros séricos en cachama blanca *Piaractus brachypomus*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2012; 25 (3): 450-461.

Weatherley A.H. Growth and ecology of fish populations. London: Academic Press. 1972. 293p.

Widanarni J, Maryam S. Evaluation of Biofloc Technology Application on Water Quality and Production Performance of Red Tilapia *Oreochromis sp.* Cultured at Different Stocking Densities HAYATI. *Journal of Biosciences*, 2012; 19: 73-80.

6. Artículo 2. Caracterización de comunidades planctónicas y bacterias heterotróficas asociadas al cultivo de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en sistema biofloc

6.1 Resumen

Caracterizar las comunidades planctónicas y bacterianas heterotróficas asociadas al bicultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en biofloc se planteó como objetivo. Estudio realizado en el Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC) en Montería (Colombia), se sembraron 80 peces/m³ con peso promedio de 35.9 g para cachama y 4.4 g de peso para tilapia nilótica con proporción 1:1. Se conformó el inóculo a sembrar según la metodología de Lango (2012). Se emplearon tanques de 1000 L (800 L volumen útil) y se trabajaron tres dietas de origen vegetal (T16%, T24% y T32%) con tres réplicas cada una por 120 días. Para caracterizar comunidades planctónicas y bacterianas se tomaron muestras mensuales y al inóculo inicial. Se tomaron cinco submuestras de 50 mL en cinco puntos distintos de cada tanque para estimar organismos planctónicos; se emplearon placas de vidrio (portaobjetos) y torundas de algodón y gaza para muestrear comunidades bacterianas; el análisis en laboratorio se hizo de acuerdo a la metodología de Madigan et al. (2009) y Tortora et al., (2007). Se estimó la abundancia e índices ecológicos de Shannon-Wiener (H'). Los valores de las variables físico-químicas del agua permitieron el establecimiento de una comunidad bacteriana y planctónica que contribuyó significativamente a la calidad del agua del sistema y en cierto grado contribuyó al crecimiento de peces. Los principales grupos identificados fueron: rotíferos, amebas, vorticelas, paramecios, nemátodos, anélidos y microalgas. El grupo más abundante fue rotífero oscilando entre 23.0±2.6 ind/mL (T16) y 41.7±13.3 ind/mL (T24). La diversidad, uniformidad y dominancia de los microorganismos muestra que la diversidad sólo superó el rango de 2 bits/ind, indicando que la diversidad de especies es relativamente baja; mientras que su uniformidad o equitatividad es relativamente alta. Para las comunidades bacterianas se aislaron 15 morfoespecies, 6 de ellas se mantuvieron durante todo el cultivo (*Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Vibrio arginolyticus*, *Vibrio sp.*, *Micrococcus sp.* y bacterias sulfito reductoras). La riqueza específica no varió con respecto al nivel de proteína, además presentaron una elevada similaridad en cuanto a la presencia y ausencia de grupos bacterianos y la interacción entre tratamientos-tiempo de cultivo. La incorporación de cepas bacterianas heterotróficas específicas al sistema biofloc, contribuye al equilibrio del sistema a través de la competencia interespecífica mediante el principio de exclusión competitiva, desplazando especies potencialmente patógenas y favoreciendo el desarrollo inmunitario de los peces.

Palabras clave: Tecnología biofloc (BFT), comunidad planctónica, bacterias heterotróficas

6.2 Abstract

It characterizes the planktonic and heterotrophic bacterial communities associated with bicultural tilapia nilótica and cachama blanca in biofloc was raised as a target. Study at the Institute of Fish Farming Research at the University of Cordoba (CINPIC) in Monteria (Colombia), 80 fish / m³ were planted with an average weight of 35.9 g for cachama and 4.4 g weight for tilapia with 1: 1 ratio. The inoculum was established according to the methodology of Lango (2012). 1000 L tanks (800L Effective capacity) were used and three diets of plant origin (T16%, T24% and T32%) with three replicates each for 120 days worked. To characterize bacterial communities planktonic and monthly samples were taken and the initial inoculum. Five sub-samples of 50 mL were taken at five different points of each tank to estimate planktonic organisms and slides were introduced and cotton balls and loop to sample bacterial communities, the laboratory analysis was according to the methodology of Madigan et al. (2009) and Tortora et al. (2007). Abundance and ecological indices of Shannon-Wiener (H') was estimated. The values of the physico-chemical water variables allowed the establishment of a bacterial and planktonic community which contributed significantly to the quality of water in the system and somewhat contributed to the growth of fish. The main groups were identified: Rotifers, amoebas, vorticella, paramecium, nematodes, annelids and microalgae. Rotifers were the most abundant ranging from 23.0±2.6 ind/mL (T16%) and 41.7±13.3 ind/mL (T24%). Diversity, evenness and dominance of microorganisms show that diversity only exceeded the range of 2 bits / ind, indicating that species diversity is relatively low; while evenness or uniformity is relatively high. Fifteen (15) morphospecies of bacterial communities were isolated, six (6) were maintained throughout the culture (*Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Vibrio arginolyticus*, *Vibrio sp.*, *Micrococcus sp.* and sulfite-reducing bacterial). Specific richness was unchanged at the protein level also showed increased similarity in the presence and absence of bacterial groups and interaction between treatment-culture time. The addition of the BFT system specific heterotrophic bacteria, contributes to the balance of system through interspecific competition using the competitive exclusion principle, displacing pathogenic and favoring the development of immune fish.

Keywords: Biofloc Technology (BFT), planktonic community, heterotrophic bacterial

6.3 Introducción

En Colombia, el desarrollo de la piscicultura está marcado por la intensificación de los cultivos de tilapia roja *Oreochromis sp.*, tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* y cachama blanca *Piaractus brachyomus*. La tilapia ofrece alta competitividad debido a su elevada calidad y agradable sabor de la carne y amplia tolerancia a distintas condiciones ambientales; además de su resistencia a las enfermedades y rapidez de crecimiento en cautiverio (FAO, 2012). La Cachama blanca es la especie de cultivo más importante para el desarrollo de pequeñas economías de sustento por la excelente calidad y sabor de su carne, que le da buena aceptación en el mercado; igualmente, su valor productivo depende de sus hábitos omnívoros con tendencia a consumo de frutos y semillas que le permite aceptar diferentes tipos de alimentos naturales, logrando altas tasas de conversión alimenticia (Mesa-Granda & Botero-Aguirre, 2007).

El hábito alimenticio principalmente omnívoro para cachama (Vázquez-Torres, 2004) y herbívora con preferencia de material vegetal principalmente fitoplancton para tilapia nilótica (Sklan et al., 2004, Pineda et al., 2012) las convierte en especies muy atractivas para los tecnologías de cultivo superintensivos en piscicultura, técnicas que buscan principalmente aumentar las cifras de producción, sin que esto involucre aumentar

significativamente el uso de los recursos naturales básicos de agua y tierra, al tiempo que se proporciona una equitativa relación costo/beneficio para apoyar la sostenibilidad económica y social, así como la sostenibilidad ambiental (Avnimelech, 2009), y que minimicen los problemas de calidad de agua en los cultivos, reduzcan la cantidad de efluentes (McIntosh et al, 2000; Avnimelech, 2007).

Dentro de estas alternativas de cultivo sostenible, se encuentran los cultivos en sistemas biofloc (biofloc technology, sistema de suspensión activa o BFT) considerados como una tecnología alternativa sostenible y eficaz (Crab et al., 2012); en donde los nutrientes dentro del sistema, pueden ser reciclados y reutilizados continuamente. El enfoque sostenible de este sistema se basa en el crecimiento de microorganismos en el medio de cultivo, beneficiado por la renovación mínima o ninguna de agua. En este sistema los microorganismos tienen dos funciones principales: a) mantenimiento de la calidad del agua, mediante la absorción de compuestos nitrogenados de generación in situ y b) su transformación en proteína microbiana, la cual se podría aprovechar en la alimentación de las especies de cultivo, reduciendo la relación en la conversión del alimento (Ray, 2010b, Emerenciano et al, 2012).

Identificar y caracterizar las comunidades planctónicas y bacterianas adheridas al floc sirve como insumo dentro del paquete de manejo adecuado del cultivo en biofloc, logrando maximizar efectos benéficos como la remoción de compuestos nitrogenados y la alimentación de los peces en cultivo (McIntosh et al., 2000; Ray et al., 2010a). Dado esto y debido a que la presencia de microorganismos planctónicos y comunidades bacterianas heterotróficas juegan un papel importante en el reciclaje de nutrientes y mantenimiento de la calidad del agua, se hace necesario caracterizarlos durante la realización del cultivo de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en sistema biofloc como contribución a la dinámica productiva de este sistema.

6.4 Materiales y métodos

La caracterización se hizo a las comunidades planctónicas y bacterianas presentes en cultivo conjunto de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en sistema biofloc, realizado en el Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC) ubicado en Montería (Córdoba). Se sembraron 80 peces/m³ en proporción 1:1 (Cachama:Tilapia) y se probaron tres dietas con diferentes niveles de proteína bruta (PB) de origen vegetal 16% (T16), 24% (T24) y 32% (T32), durante 120 días. Alevinos de cachama blanca con peso promedio de 35.9 g y longitud total promedio de 12.4 cm; para tilapia nilótica peso y longitud total promedio de 4.4 g y 6.3 cm respectivamente. Cada tratamiento fue evaluado por triplicado (n=3) en tanques plásticos de 1000 L (volumen útil 800 L) aireación mediante blower de 1 hp (HG-750-C2-China) y manguera polidifusora (Aero-tube, USA).

Los tanques se inocularon con biofloc preparado de acuerdo a las instrucciones de Lango (2012) tal cual fue descrito por Ayazo *et al.* (2014). Para la adición de melaza como fuente de carbono soluble se utilizó la ecuación propuesta por Kubitzka (2011): Melaza (g)= (NT)*(Vol. H₂O)*(C:N). Se mantuvo una relación carbono: nitrógeno (C:N) de 20:1. Se adicionó sal (NaCl) hasta mantener salinidad de 3 ppm para minimizar la toxicidad del nitrito.

Amonio, nitrito y nitrógeno total amoniacal (TAN) se midieron semanalmente con un espectrofotómetro (Espectronic, Genesys 5, USA). La alcalinidad y dureza se determinaron por el método de la fenoltaleína, utilizando reactivos HACH®, el oxígeno disuelto, pH y porcentaje de saturación, se midieron diariamente con un oxímetro digital (YSI, 550A, USA) y pH-metro (YSI, PH100, USA). Para determinar el volumen de floc se midieron los sólidos totales sedimentables (SST), en conos Imhoff.

La toma de muestras de comunidades planctónicas se realizó durante dos etapas del estudio: La activación del inóculo de floc (14 días) y mensualmente durante el desarrollo del cultivo, se tomaron cinco submuestras de 50 mL en cinco puntos distintos de cada tanque; se homogenizaron en un Erlenmeyer de 250 mL y fueron tomadas tres alícuotas de 1 mL. Para la cuantificación se utilizó una cámara Segwick-Rafter con la ayuda de un microscopio de luz (Carl Zeiss, Axiostar, Usa) y un microscopio invertido de contraste de fase positiva (Carl Zeiss, Primovert, Alemania), con objetivos entre 10x y 40x. Para la identificación de especies y grupos del plancton se realizaron microfotografías y las medidas de las estructuras claves de los microorganismos se hizo con la ayuda de un analizador de imágenes (Carl Zeiss, Axion visión 4.3, Alemania), y las claves taxonómicas descritas por Streble & Krauter (1987), Yacubson (1969; 1972), Boltovskoy (1978), Balech (1988), Taylor (1976) y Vidal (1995).

Para muestreo de comunidades bacterianas se instalaron dos placas de vidrio (portaobjetos, 2,6 x 7,6 =19,8 cm²) en cada unidad experimental por 72 horas, posteriormente llevadas al laboratorio para observar cubrimiento de flóculos sobre las placas y, al microscopio, previamente fijadas con coloración estándar de Gram en objetivo de 40X.

Para el aislamiento, crecimiento de unidades formadoras de colonias (UFC), se introdujeron dos torundas (almohadillas de algodón y gaza), por 72 horas e incubadas en caldo nutritivo a 28 °C por 24 a 48 horas. Posteriormente se transfirió un inóculo a Agar Nutritivo® para el desarrollo de bacterias saprófitas (cocos y bacilos Grampositivos y Gramnegativos) y específicos: Eosina Azul de Metileno (EMB®) selectivo para enterobacterias, Tiosulfato Citrato Bilis de Buey Sacarosa (TCBS®) selectivo para Vibrionaceae, Agar Cetrimide® selectivo para Pseudomonadaceae y Medio de SIM®, para determinar la presencia de bacterias sulfitorreductoras (Madigan et al., 2009). A partir del desarrollo de microorganismos, se aislaron y se purificaron cepas; se determinaron las características fenotípicas macroscópicas de las colonias y se realizaron tinciones para determinar las características microscópicas de las bacterias. Se establecieron pruebas bioquímicas en fase exponencial de crecimiento (24 horas) para identificar grupos funcionales, géneros hasta nivel de especie (Tortora et al., 2007).

La cuantificación de bacterias se realizó mediante el recuento de Unidades Formadoras de Colonia (UFC/mL) en placa vertida según Tortora et al. (2007), se incubaron por 24 horas a 28°C, se realizó recuento de las colonias en réplicas y diluciones, se hicieron correcciones para factor de dilución (FD) y se estimó promedio del número de UFC/mL en cada tratamiento.

La abundancia (A) se estimó con la fórmula $(A) = V_{cf} \cdot N_i / V_{ti} \cdot V_c$, donde V_{cf} = volumen de la concentración final, N_i = número de individuos contados, V_{ti} = volumen total inicial y V_c = volumen de la muestra contado. Luego la abundancia (absoluta) fue transformada en abundancia relativa.

Se estimaron índices ecológicos de Shannon–Wiener ($H' = -\sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$), donde S =número de especies (la riqueza de especies), p_i = proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos (es decir la abundancia relativa de la especie i) establecido por n_i = número de individuos de la especie i , N =número de todos los individuos de todas las especies. Índice de uniformidad de Pielou (Pielou, 1975). (J')= H'/H'_{\max} , donde H' = índice de Shannon–Wiener, $H'_{\max} = \ln(S)$, S = número de especies (la riqueza de especies) e Índice de dominancia de Simpson ($\lambda = \sum p_i^2$); donde, p_i = abundancia proporcional de la especie i , es decir, el número de individuos de la especie i dividido entre el número total de individuos de la muestra. Manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie.

Para la caracterización de las comunidades planctónicas se utilizó estadística descriptiva, con la observación de presencia y/o ausencia de las especies de microorganismos identificados. Las variables de cuantificación, calidad de agua, desempeño del cultivo y abundancia de aerobios mesófilos fueron sometidas a pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov test) y homogeneidad de varianza (Levene's test), luego se aplicó un análisis de varianza y cuando se encontró diferencia significativa se aplicó la prueba de rango múltiple de Tukey. Para todos los casos se estableció $p < 0.05$ como diferencia significativa. Todos los resultados fueron analizados con el software estadístico S.A.S. versión 9.1 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. 2008)

Para la comunidad bacteriana se utilizó el programa ecológico PRIMER™ (v.5.2.9) con el fin de evaluar los índices de riqueza específica (S), y el índice de Similaridad de Bray-Curtis entre variables y tratamientos. En cuanto a la abundancia de aerobios mesófilos, los valores se sometieron a la prueba de normalidad a través del test de Kolmogorov-Smirnov/Lilliefors, posteriormente se realizó análisis paramétrico mediante ANOVA a dos vías en función de tiempo y tratamientos (% Proteína Bruta). Cuando se presentaron diferencias entre los valores promedio de las variables estudiadas, se aplicó la prueba de Tukey para diferencia entre medias con una significancia del 5%. Para estos análisis, se utilizó el paquete estadístico StatPlus:mac Pro versión 5.9.80 (AnalystSoft Inc., Statplus:mac, 2015).

6.5 Resultados

Luego de instalado el inóculo se logró su activación a los 14 días y al día 24 se consideró maduro y listo para ser inoculado. Los parámetros de calidad de agua indicaron que el TAN disminuyó de 3.0 ± 0.0 mg/L a 1.8 ± 0.9 mg/L, aumentó el nitrito de 0.002 ± 0.01 mg/L a 0.3 ± 0.4 mg/L y posteriormente aumentó el nitrato (0.7 ± 0.3 mg/L). Esta variación, indica la dinámica que deben seguir los productos nitrogenados en la estabilización y posterior maduración del inóculo de floc. Parámetros de calidad de agua tales como oxígeno disuelto (8.2 ± 0.5 mg/L), alcalinidad (120.5 ± 2.4 mg/L), dureza (95.0 ± 0.8 mg/L), temperatura ($27.8 \pm 0.3^\circ\text{C}$) y pH (7.8 ± 0.3), se encontraron dentro de los rangos establecidos para la preparación de inóculos de floc (Lango, 2012) (Tabla 6-1)

Tabla 6-1: Valores promedios de parámetros físicos y químicos del agua monitoreados durante el cultivo de cachama blanca *P. brachypomus* y tilapia nilótica *O. niloticus*, en sistema biofloc. Letras diferentes en la misma columna, indican diferencia significativa

| Parámetros | Tratamientos | | |
|---|------------------------|-------------------------|------------------------|
| | T16 | T24 | T32 |
| OD (mg/L) | 8.2±0.1 ^a | 8.2±0.1 ^a | 8.5±0.0 ^a |
| Saturación OD (%) | 103.2±0.5 ^a | 103.4±1.9 ^{ab} | 106.7±0.4 ^b |
| Temperatura (°C) | 27.3±0.0 ^a | 27.3±0.0 ^a | 27.4±0.0 ^a |
| Ph | 7.7±0.0 ^a | 7.7±0.0 ^{ab} | 7.4±0.0 ^b |
| Alcalinidad total (mg CaCO ₃ /L) | 67.2±4.4 ^a | 60.5±2.8 ^a | 55.2±5.9 ^a |
| Dureza total (mg CaCO ₃ /L) | 200.9±5.1 ^a | 254.5±3.8 ^{ab} | 233.4±9.1 ^b |
| Nitrógeno total amoniacal (TAN, mg/L) | 2.4±1.1 ^a | 2.3±0.1 ^a | 2.2±0.0 ^a |
| Amonio no ionizado (NH ₃ , mg/L) | 0.3±0.0 ^a | 0.2±0.0 ^a | 0.3±0.0 ^a |
| Nitrito (NO ₂ , mg/L) | 0.4±0.0 ^a | 0.4±0.0 ^a | 0.5±0.0 ^a |
| Nitrato (NO ₃ , mg/L) | 0.4±0.0 ^a | 0.4±0.0 ^a | 0.5±0.1 ^a |
| Volumen de floc (ml/L) | 90.3±20.7 ^a | 56.3±9.7 ^b | 56.6±20.4 ^b |

Los principales grupos identificados fueron rotíferos, amebas, vorticelas, paramecios, nemátodos, anélidos y microalgas (este último grupo con menor presencia durante las primeras semanas de manejo del bicultivo), con especies características de cada grupo identificado (Tabla 6-2).

Tabla 6-2: Identificación cualitativa de los microorganismos planctónicos asociados al establecimiento del inóculo de floc y al inicio del bicultivo de *Piaractus brachypomus* y *Oreochromis niloticus* en sistema biofloc. Presente (+), ausente (-).

| Microorganismos | Inóculo de floc | T16 | | | T24 | | | T32 | | |
|------------------------------|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | T1R1 | T1R2 | T1R3 | T2R1 | T2R2 | T2R3 | T3R1 | T3R2 | T3R3 |
| Rotíferos | | | | | | | | | | |
| <i>Euchlanis</i> sp. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Philodina</i> sp. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Lecane luna</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Lecane</i> sp. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Habrotrocha lata</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Amebas | | | | | | | | | | |
| <i>Arcella vulgaris</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Euglypha alveolata</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Euglypha acanthophora</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Vorticela | | | | | | | | | | |
| <i>Vorticella</i> sp. | + | + | + | - | - | + | + | - | - | + |

| Anélidos | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| <i>Aelosoma variegatum</i> | + | + | - | - | - | - | + | + | - | - |
| Nemátodo | | | | | | | | | | |
| <i>Monhytera similis</i> | + | + | - | - | + | - | - | + | + | - |
| Paramecio | | | | | | | | | | |
| <i>Paramecio sp.</i> | + | + | - | + | + | - | - | - | - | + |
| Microalgas | | | | | | | | | | |
| <i>Scenedesmus bijugatus</i> | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + |
| <i>Scenedesmus acutus</i> | + | + | - | - | + | - | - | - | - | - |
| <i>Scenedesmus quadricauda</i> | + | + | - | - | + | - | + | + | + | - |
| <i>Navicula sp.</i> | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| <i>Pinnularia nobilis</i> | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| <i>Pediastrum tetras</i> | + | - | - | - | - | + | - | - | + | - |
| <i>Lyngbya limnetica</i> | + | + | - | - | - | + | - | - | + | - |
| <i>Pinnularia borealis</i> | + | - | - | - | + | - | - | - | - | + |
| <i>Gyrosigma attenuatum</i> | + | + | - | + | - | - | + | + | - | - |

En cuanto a los grupos de microorganismos planctónicos encontrados en el cultivo, la presencia de rotíferos, amebas, vorticelas, nemátodos, anélidos, paramecio se observan en la tabla 6-3.

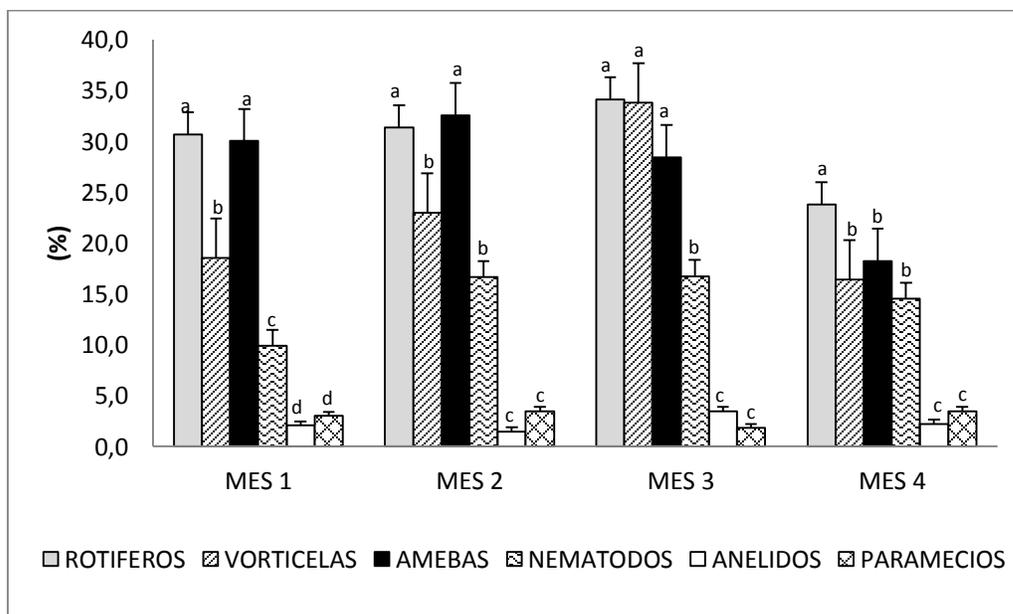
Tabla 6-3: Valores promedio por grupo de microorganismos planctónicos (ind/mL) durante los cuatro meses de cultivo en biofloc para Cachama blanca *P. brachypomus* y Tilapia nilótica *O. niloticus*.

| Mes de cultivo | T16% | T24% | T32% |
|-------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| Rotífero | | | |
| 1 | 40.3±3.1 ^a | 37.7±11.0 ^b | 23.3±11.0 ^c |
| 2 | 33.7±6.5 ^a | 35.3±16.6 ^a | 34.7±7.1 ^a |
| 3 | 35.3±4.5 ^b | 41.7±13.3 ^a | 35.7±10.3 ^b |
| 4 | 23.0±2.6 ^a | 29.3±4.2 ^a | 26.3±2.1 ^a |
| Amebas | | | |
| 1 | 25.7±1.5 ^a | 20.7±8.1 ^a | 15.0±1.0 ^b |
| 2 | 29.0±4.4 ^a | 21.3±2.1 ^a | 25.7±1.5 ^a |
| 3 | 33.3±3.5 ^b | 44.7±2.1 ^a | 33.7±4.9 ^b |
| 4 | 14.3±2.5 ^b | 23.7±2.9 ^a | 16.3±1.5 ^b |
| Vorticelas | | | |
| 1 | 33.0±4.4 ^b | 40.0±2.0 ^a | 26.3±6.7 ^c |
| 2 | 40.0±2.0 ^a | 33.0±4.4 ^b | 34.7±6.5 ^b |
| 3 | 26.3±6.7 ^a | 34.7±6.5 ^a | 33.0±4.4 ^a |
| 4 | 19.3±1.5 ^b | 22.7±2.1 ^a | 18.3±3.1 ^b |
| Nemátodos | | | |
| 1 | 9.7±5.5 ^a | 9.7±2.5 ^a | 13.3±6.4 ^a |

| | | | |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 2 | 17.3±3.1 ^a | 20.7±6.4 ^a | 17.0±3.6 ^a |
| 3 | 21.0±1.0 ^a | 17.0±3.6 ^a | 17.3±3.1 ^a |
| 4 | 13.3±4.2 ^b | 21.0±1.0 ^a | 13.7±4.7 ^b |
| Anélidos | | | |
| 1 | 1.3±0.6 ^a | 3.5±0.7 ^a | 2.0±1.4 ^a |
| 2 | 2.0±0.0 ^a | 1.5±0.7 ^a | 1.3±0.6 ^a |
| 3 | 2.7±1.5 ^a | 5.3±2.1 ^b | 3.5±0.7 ^a |
| 4 | 1.7±1.2 ^b | 4.0±1.0 ^a | 1.7±0.6 ^b |
| Paramecio | | | |
| 1 | 4.5±0.7 ^a | 3.5±2.1 ^b | 2.0±1.4 ^b |
| 2 | 4.5±0.7 ^a | 3.5±2.1 ^a | 3.5±0.7 ^a |
| 3 | 1.5±0.7 ^a | 2.0±0.0 ^a | 2.5±0.7 ^a |
| 4 | 3.0±1.0 ^b | 5.0±3.0 ^a | 3.5±2.1 ^b |
| Microalgas | | | |
| 1 | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a |
| 2 | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a |
| 3 | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a |
| 4 | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a |

La abundancia relativa se observa en la figura 6-1, donde rotíferos y amebas fueron los grupos de mayor abundancia durante los tres primeros meses de cultivo ($p < 0.05$).

Figura 6-1: Abundancia relativa por grupos identificados durante el cultivo de cachama blanca *P. brachypomus* y tilapia nilótica *O. niloticus*, en sistema biofloc. Letras diferentes en la misma columna, indican diferencia significativa ($p > 0.05$)



En la tabla 6-4 se presentan los índices ecológicos evaluados a partir de la caracterización cuantitativa de los microorganismos asociados a los macroagregados del floc en el sistema.

El índice de diversidad de Shannon-Wiener los dos primeros meses no registró diferencia significativa ($p>0.05$); mientras que el tercer mes este índice fue mayor en T16 (2.6 bits/ind) y el cuarto mes se registró en T24 (2.0 bits/ind) siendo estadísticamente diferente a los demás tratamientos ($p>0.05$). El índice de uniformidad de Pielou no mostró diferencia significativa los meses 1, 2 y 4 de cultivo ($p>0.05$); mientras que en el mes tres el mayor índice de uniformidad lo registró T32 (0.9), siendo estadísticamente diferente a los otros tratamientos. La dominancia fue mayor, tanto para T16 (0.9) durante el segundo y cuarto mes, como para T32 (0.9) durante el tercer y último mes de cultivo; sin embargo, los valores de dominancia entre los tratamientos y los cuatro meses de cultivo no difieren estadísticamente.

Tabla 6-4: Índices ecológicos analizados en la caracterización e identificación de los microorganismos planctónicos asociadas al cultivo de cachama blanca *P. brachypomus* y Tilapia nilótica *O. niloticus*, en sistema biofloc.

| Índices ecológicos | Abundancia relativa (ind/mL) | Diversidad de Shannon-Wiener (bits/ind) | Uniformidad de Pielou | Dominancia de Simpson |
|--------------------|------------------------------|---|-----------------------|-----------------------|
| MES 1 | | | | |
| T16 | 19.8±0.1 ^a | 2.1±0.0 ^a | 0.9±0.0 ^a | 0.8±0.2 ^a |
| T24 | 22.4±0.2 ^a | 2.1±0.1 ^a | 0.9±0.0 ^a | 0.8±0.2 ^a |
| T32 | 17.7±0.1 ^a | 1.9±0.1 ^a | 0.8±0.0 ^a | 0.8±0.2 ^a |
| MES 2 | | | | |
| T16 | 18.5±0.2 ^b | 2.0±0.2 ^a | 0.8±0.5 ^a | 0.9±0.1 ^a |
| T24 | 25.6±0.2 ^a | 1.9±0.1 ^a | 0.9±0.4 ^a | 0.8±0.2 ^a |
| T32 | 18.2±0.2 ^b | 1.8±0.5 ^a | 0.8±0.2 ^a | 0.8±0.1 ^a |
| MES 3 | | | | |
| T16 | 15.6±0.5 ^b | 2.6±0.1 ^a | 0.7±0.1 ^b | 0.8±0.1 ^a |
| T24 | 20.3±0.2 ^a | 2.0±0.2 ^b | 0.6±0.2 ^b | 0.8±0.2 ^a |
| T32 | 14.6±0.1 ^b | 1.9±0.2 ^b | 0.9±0.0 ^a | 0.9±0.1 ^a |
| MES 4 | | | | |
| T16 | 18.6±0.1 ^b | 1.8±0.2 ^b | 0.8±0.1 ^a | 0.9±0.1 ^a |
| T24 | 27.8±0.2 ^a | 2.0±0.1 ^a | 0.8±0.2 ^a | 0.8±0.2 ^a |
| T32 | 15.4±0.0 ^b | 1.6±0.0 ^b | 0.7±0.1 ^a | 0.9±0.1 ^a |

Los grupos de bacterias heterotróficas aisladas del cultivo de cachama blanca y tilapia nilótica en sistema de biofloc se presentan en la tabla 6-5.

Tabla 6-5: Grupos bacterianos aislados en el cultivo de Cachama blanca *P. brachypomus* y Tilapia nilótica *O. niloticus*, en sistema biofloc.

| Grupo bacteriano (genero/especie) | Forma | Tinción de Gram |
|-----------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Klebsiella</i> sp. | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Salmonella</i> sp. | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Enterobacter</i> sp. | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Proteus</i> sp. | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Vibrio arginolyticus</i> | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Vibrio cholerae</i> | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Vibrio</i> sp. | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Pseudomonas</i> sp. | Bacilo | Gramnegativo |
| <i>Bacillus subtilis</i> | Bacilo esporulado | Grampositivo |
| <i>Bacillus cereus</i> | Bacilo esporulado | Grampositivo |
| <i>Bacillus</i> sp. | Bacilo esporulado | Grampositivo |
| <i>Micrococcus</i> sp. | Coco | Grampositivo |
| <i>Staphylococcus</i> sp. | Coco | Grampositivo |
| Otras Sulfitorreductoras | Cocos y Bacilos | Grampositivo y Gramnegativo |

El análisis cuantitativo de bacterias en cultivo muestra que el recuento al microscopio se determinaron valores promedio de $4,2 \pm 0,7$ UFC/cm² en T32% para el día 60 y $1,8 \pm 0,5$ UFC/cm² en T24% para el día 90 respectivamente (Tabla 6-6).

Tabla 6-6: Valores promedio (UFC/cm²) de la densidad de colonias bacterianas entre tratamientos y el tiempo de cultivo en sistema de biofloc.

| | TRATAMIENTOS | | |
|---------|---------------|---------------|---------------|
| | 16% | 24% | 32% |
| Día 30 | $3,5 \pm 0,6$ | $2,7 \pm 0,3$ | $3,1 \pm 0,4$ |
| Día 60 | $2,9 \pm 0,4$ | $3,1 \pm 0,8$ | $4,2 \pm 0,7$ |
| Día 90 | $3,2 \pm 0,5$ | $1,8 \pm 0,5$ | $1,9 \pm 0,6$ |
| Día 120 | $3,2 \pm 0,4$ | $2,2 \pm 0,2$ | $2,7 \pm 0,2$ |

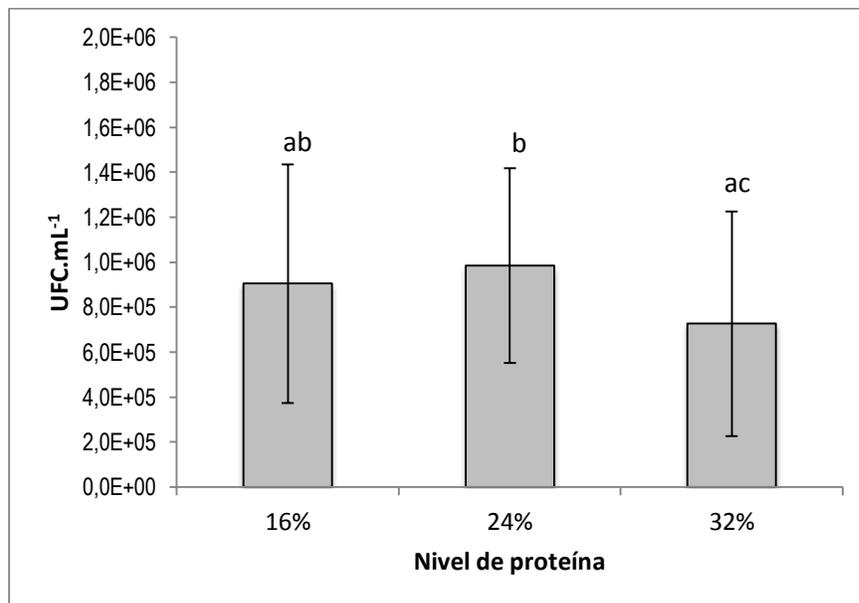
La tabla 6-7, presenta que las máximas abundancias se alcanzaron al final del experimento (día 120), en el tratamiento T32% con $1,5 \times 10^6 \pm 1,6 \times 10^5$ UFC/ml.

Tabla 6-7: Valores promedio de la abundancia de bacterias heterotróficas (UFC/ml) en el sistema de biofloc

| TIEMPO | TRATAMIENTOS | | |
|---------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 16% PB | 24% PB | 32% PB |
| DIA 0 | $1,0 \times 10^4$ | $1,0 \times 10^4$ | $1,0 \times 10^4$ |
| DIA 30 | $2,8 \times 10^5 \pm 1,1 \times 10^5$ | $5,9 \times 10^5 \pm 2,6 \times 10^5$ | $4,4 \times 10^5 \pm 1,8 \times 10^5$ |
| DIA 60 | $6,6 \times 10^5 \pm 3,7 \times 10^5$ | $9,6 \times 10^5 \pm 3,0 \times 10^5$ | $4,0 \times 10^5 \pm 1,4 \times 10^5$ |
| DIA 90 | $1,2 \times 10^6 \pm 2,3 \times 10^5$ | $1,0 \times 10^6 \pm 1,4 \times 10^5$ | $6,0 \times 10^5 \pm 3,9 \times 10^5$ |
| DIA 120 | $1,5 \times 10^6 \pm 2,0 \times 10^5$ | $1,4 \times 10^6 \pm 5,6 \times 10^5$ | $1,5 \times 10^6 \pm 1,6 \times 10^5$ |

La mayor abundancia de bacterias heterotróficas en el sistema de cultivo biofloc, en función de la concentración de proteína los peces (figura 6-2), se presentó en el tratamiento T24% con una densidad media de $9,9 \times 10^5$ UFC/ml, y la menor se dio en el tratamiento T32% ($7,3 \times 10^5$ UFC/ml), observándose diferencias significativa ($p < 0.05$).

Figura 6-2: Densidad de bacterias heterotróficas (UFC/ml) en función de la concentración de proteína bruta del alimento



En cuanto al período de cultivo, la mayor densidad se presentó al final del ensayo (día 120) de $1,44 \times 10^6$ UFC/ml, presentando diferencia significativa ($p < 0.05$) durante el experimento (Figura 6-3).

Figura 6-3: Densidad de bacterias heterotróficas (UFC/mL) en función del periodo de cultivo.

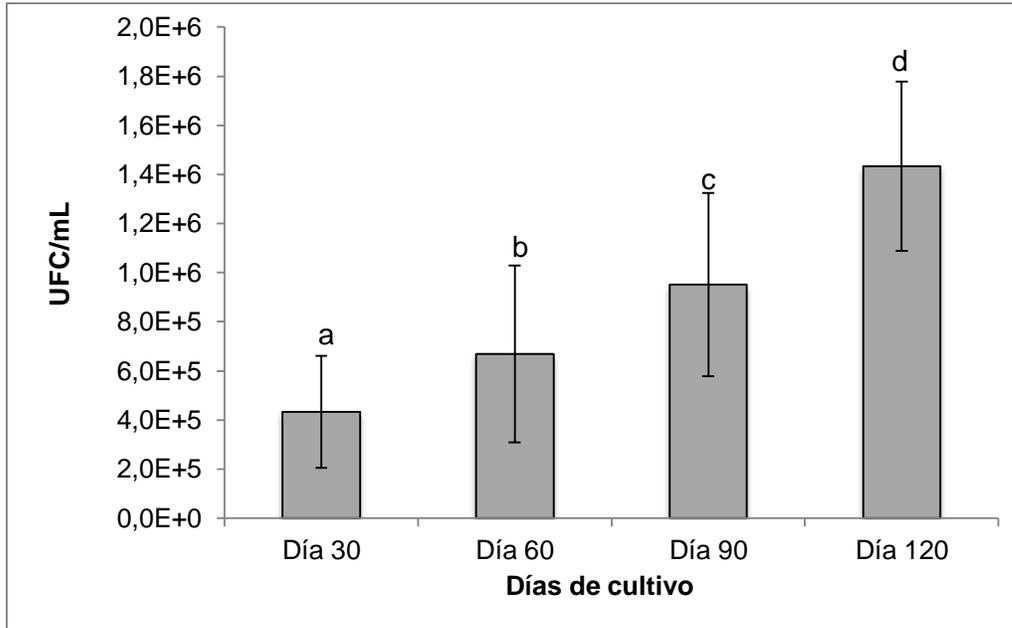
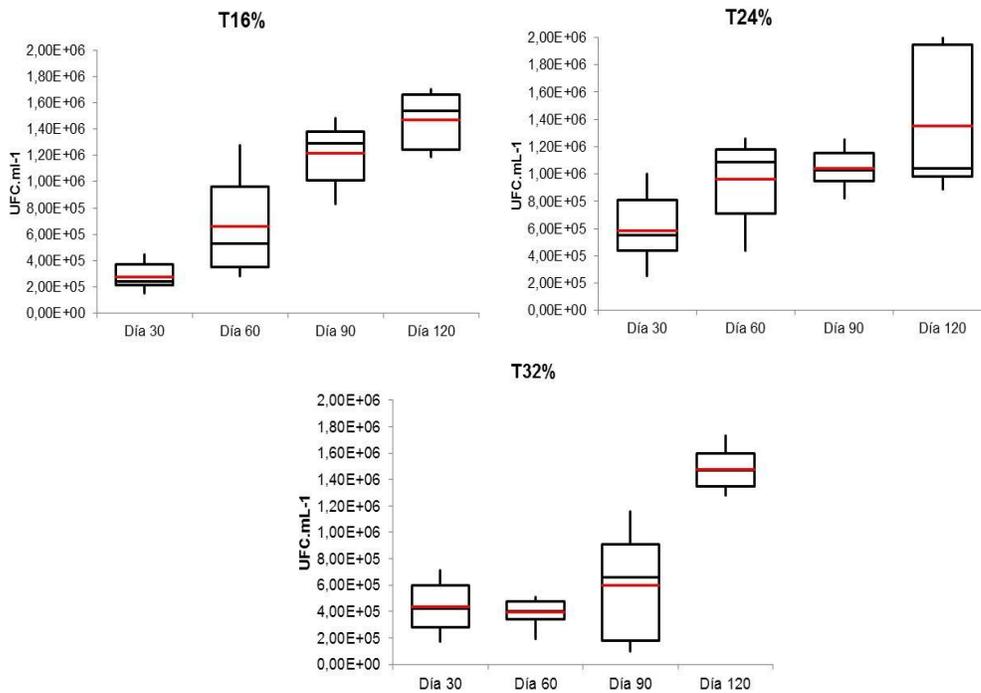


Figura 6-4: Abundancia de bacterias heterotróficas (UFC/ml) durante el periodo de cultivo en función del nivel de proteína.



Para la estructura de las comunidades bacterianas heterotróficas se establecieron cepas aisladas de los diferentes tratamientos y fases del cultivo, un número máximo de 15 morfoespecies, entre las cuales 6 de ellas se mantuvieron durante todo el ciclo, para todos los tratamientos (*Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Vibrio arginolyticus*, *Vibrio sp.*, *Micrococcus sp.* y bacterias sulfitorreductoras), algunas especies no se detectaron en los primeros días de cultivo pero si al final de éste, como *Bacillus subtilis*, *Salmonella sp.* y *Proteus sp.*

La figura 6-5 presenta el dendrograma de similitud entre la interacción tiempo-tratamiento, en el cual se pudo corroborar una similitud con respecto a la presencia de las diferentes cepas en un 85%, formando dos grupos diferenciables: las cepas que aparecieron en los primeros 60 días y otras en los últimos 90-120 días, con la interacción entre los tratamientos y su desarrollo en el tiempo (día/%proteína bruta).

Figura 6-5: Dendrograma de similitud entre los tratamientos y la presencia o ausencia de las bacterias en el floc.

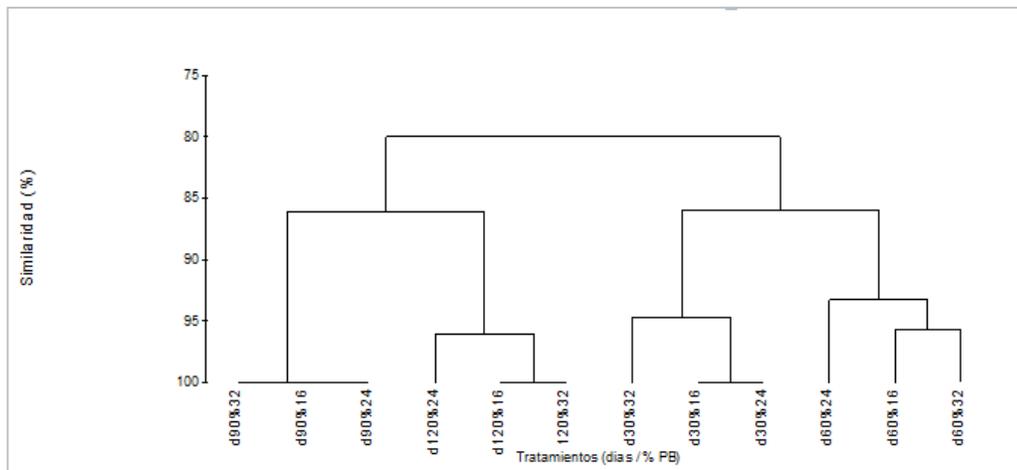
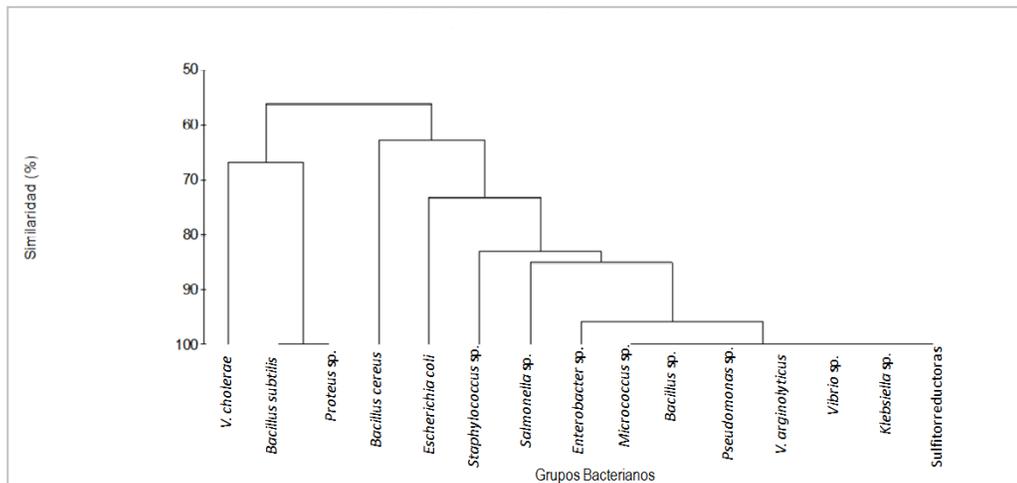


Figura 6-6: Dendrograma de similitud entre grupos bacterianos con respecto a los tratamientos en el floc.



6.6 Discusión

El oxígeno disuelto en todos los tratamientos se mantuvo con valor promedio mayor a 8.4 mg/L y con altos porcentajes de saturación (>100%); Kubitza (2011b) sugiere una saturación de 70.5% como adecuada para cultivo comercial de tilapias en sistema biofloc. En BFT la aireación continua es esencial para mantener los niveles de oxígeno disuelto requeridos por los peces y microorganismos, los cuales se encargan de la eliminación de los compuestos nitrogenados, de la descomposición aeróbica de la materia orgánica y en algunos casos la nitrificación, proceso en el cual se requiere aproximadamente 4 mg/L de O₂ y 8 mg/L de HCO₃ para la oxidación de 1 mg/L TAN (Azim & Little, 2008).

En el presente estudio la temperatura promedio (27.3°C) se mantuvo cercano al rango para el desarrollo de las comunidades bacterianas. Hargreaves (2006) afirma que temperaturas tropicales (27 a 28 °C) son ideales para mantener una alta concentración de bacterias suspendidas en la columna de agua; lo cual garantizó una adecuada velocidad de reacción del proceso de remoción de complejos nitrogenados (Lango, 2012).

La dureza total (200.9–254.5 mg/L CaCO₃) se mantuvo con valores por encima de 200mg/LCaCO₃. Kubitza (2011b), sugirió que valores de dureza superiores a 150 mg/L CaCO₃ son tolerables para el desarrollo del cultivo de tilapias en sistemas BFT, mientras que Poleo et al. (2011) reportaron valores de (458.77mg/L CaCO₃) en cultivos de cachama blanca alta densidad sin efectos evidentes en el crecimiento. Sin embargo, los valores relativamente altos de dureza total reportados en el presente estudio se sugiere están asociado a la acumulación de iones de sodio por la utilización de sal como medida preventiva para reducir la toxicidad producida por el nitrito.

Los valores promedios de alcalinidad reportados en este estudio (55.2 – 67.2 mg/L CaCO₃), se encontraron en el límite inferior del rango recomendado (60-100 mg/L CaCO₃) por Kubitza (2011a) para sistema BFT pero dentro del rango de tolerancia de las especies de cultivo 60.0 a 150.0 mg (Saavedra, 2006; Makino et al., 2009).

De acuerdo con Ray et al. (2010a) la cadena trófica que se produce entre zooplancton, algas y bacterias juega un rol importante en la transferencia de nutrientes; sin embargo, también genera consumo de oxígeno y puede causar una reducción de la alcalinidad a través de la respiración. Estos mismos autores afirmaron que en los sistemas intensivos con nulo recambio de agua, las bacterias son agentes principales en el mantenimiento de la calidad del agua y lo hacen a través de dos categorías funcionales: la asimilación heterotrófica del amoníaco y la nitrificación química autótrófica de las bacterias (Ebeling et al., 2006; Hargreaves, 2006). La ruta heterotrófica elimina TAN de la columna de agua para construir proteínas celulares; mientras que las bacterias nitrificantes adquieren energía a través de las reacciones de oxidación de TAN a nitrito y luego a nitrato, así tanto la asimilación como la nitrificación consumen oxígeno y reducen alcalinidad.

Ebeling et al., 2006 sugieren que para estos procesos autótróficos y heterotróficos se requieren hasta 7.14 gCaCO₃ por gramo de nitrógeno amoniacal reducido a nitrato, para compensar y mantener niveles adecuados de alcalinidad. En este estudio la tendencia

de la alcalinidad hacia valores bajos, se sugiere como consecuencia del desdoble y aprovechamiento de compuestos nitrogenados.

En cuanto a los valores de los compuestos nitrogenados, el NO_2 con rango de 0.4 a 0.5mg/L, NO_3 (0.4 a 0.5mg/L), NH_3 (0.2 a 0.3 mg/L) y TAN (2.2 a 2.4 mg/L). Kubitzka (2011b) y Wu & Lu (2012), registraron valores hasta de 12 ± 0.0 mg/L y 0.30mg/L de TAN y NH_3 , respectivamente; sin incidencia evidente sobre el crecimiento de los peces. Por lo que se puede sugerir que la dinámica de los productos nitrogenados favoreció el establecimiento de las comunidades planctónicas y bacterias heterotróficas en el sistema.

De esta manera, los valores de las variables físico-químicas del agua, analizadas a lo largo del bicultivo de tilapia nilótica y cachama blanca en sistema biofloc permitieron el establecimiento de una comunidad bacteriana y planctónica que contribuyó significativamente a la calidad del agua del sistema y en cierto grado contribuyó al crecimiento de peces.

La caracterización de los microorganismos asociados al cultivo de *Piaractus brachypomus* y *Oreochromis niloticus* en sistema biofloc indica que éste, es rico en microorganismos planctónicos de importancia biológica y nutricional como: rotíferos, amebas, vorticelas, nemátodos, anélidos, paramecios y microalgas. Estos resultados coinciden con los reportados por Monroy-Dosta et al. (2013) quienes aseguran que las comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de Tilapia estaban conformadas por bacterias, microalgas, ciliados, rotíferos y nemátodos.

En el presente estudio, del grupo de los rotíferos fueron identificadas cinco especies: *Euchlanis* sp., *Lecane* sp., *Lecane luna*, *Habrotrocha lata* y *Philodina* sp, siendo esta última la especie de mayor abundancia durante los muestreos con valores que oscilaron entre 14.0 ± 1.7 y 46.3 ± 11.8 ind/mL. Loureiro et al. (2012), señalaron que los rotíferos frecuentemente están asociados al biofloc, debido a que pueden fragmentar los flóculos y consumir las bacterias adheridas; además, el mucilago producido por sus excreciones también ayuda a la formación de nuevos flóculos (Pérez, 2010). En el presente estudio, la abundancia de rotíferos no presentó diferencia significativa, entre tratamientos, oscilando entre 23.0 y 41.7 ind/mL; valores dentro del rango reportado (5 a 196 ind/mL) por Monroy-Dosta et al. (2013) en un estudio similar.

Los protistas son una de las principales comunidades de microorganismos implicadas en la eliminación de contaminantes, especialmente los producidos por compuestos nitrogenados, contribuyendo a la formación de bioagregados y flóculos (Arregui et al., 2007; 2008) y a la depredación de poblaciones de bacterias que pueden llegar a ser patógenas (Pérez-Uz et al., 2009). Fueron identificadas tres especies de amebas: *Euglypha acanthophora*, *Euglypha alveolata* y *Arcella vulgaris*, destacándose ésta última con valores entre 4.3 ± 2.5 y 53.0 ± 13.2 ind/mL. Serrano et al. (2008) al caracterizar las comunidades de protistas asociadas a plantas con eliminación de nitrógeno, concluyen que las amebas conforman un elemento significativo de la comunidad, por lo que deberían considerarse en este tipo de sistemas como componentes de la comunidad biológica floculante. Estos mismos autores afirmaron que las amebas podrían depredar sobre los agregados mucosos que forman las bacterias nitrificantes.

Otro grupo importante fueron los ciliados, considerado como un nutritivo alimento natural de peces y camarones (Castro et al., 2004). En el presente estudio los ciliados estuvieron representados por *Vorticella* sp y *Paramecio* sp. Monroy-Dosta et al. (2013), identificaron seis géneros en un cultivo de Tilapia en sistema biofloc (*Paramecium*, *Stylonychia*, *Vorticella*, *Colpidium*, *Epistylis* y *Halteria*); es importante señalar que los elementos que producen los flóculos tales como la fuente de carbono, alimento balanceado, así como los peces acondicionados para el sistema, pueden tener una influencia directa sobre los grupos de organismos que se desarrollan.

Monroy-Dosta et al. (2013) observaron valores mínimos (10 ind/mL) y máximos (102 Ind/mL), en cultivo de tilapia en sistema biofloc durante 14 semanas; mientras que en el presente estudio se presentaron valores entre 1.5 y 40.0 ind/mL, durante 120 días; lo cual permite sugerir que el tiempo de cultivo puede afectar la concentración de ciliados en el agua. Ray et al. (2010b) afirman que si las condiciones ambientales son inadecuadas, p.e oxígeno disuelto bajo y altos niveles de toxicidad, *Vorticella* sp., dejará sus tallos; por lo tanto consideran que la presencia de tallos vacíos es un indicativo de condiciones desfavorables en los sistemas de cultivo y sugirieron que *Vorticella* solo se encuentra cuando la calidad del floc es buena. Es conveniente señalar que en el presente estudio la mayoría de las vorticelas presentaban tallo.

Del grupo de los nemátodos sólo fue identificada la especie *Monhytera similis*; aun cuando, este grupo es considerado de gran importancia dentro del sistema biofloc por presentar gran contenido de proteína cruda y ácidos grasos esenciales en su composición (De Lara, 2005). Ray et al. (2010b), mencionaron que los nemátodos son uno de los grupos más importantes en los sistemas biofloc y que su abundancia está determinada por la presencia de ciliados como *Paramecium* y *Colpidium* que le sirven de alimento. Además, la tasa de consumo de los peces que se encuentran en el sistema puede igualmente intervenir en su concentración. Focken et al. (2006) y Loureiro et al. (2012) reportaron la presencia de nemátodos en el contenido estomacal de peces cultivados en el sistema biofloc y sugieren que son una importante fuente de alimento vivo *in situ*.

Entre los anélidos la especie *Aelosoma variegatum* sólo fue encontrada durante la estabilización del sistema, posterior a esto no fueron reportados en los muestreos realizados, esta especie presentó los menores rangos (0.5 ind/mL) en comparación con el resto de grupos. Pérez-Uz et al. (2010) identificaron los protozoarios asociados a reactores biológicos o fangos activos, señalando que es habitual encontrar estos microorganismos y gran parte de oligoquetos, en procesos con elevadas edades de fango (alta materia orgánica) y durante etapas de nitrificación, alimentándose de detritus, bacterias y algas.

Contrario a esto, en el presente estudio fue esta especie la que presentó la menor densidad, sugiriéndose que su baja presencia podría ser explicada por la posible predación por parte de los peces de cultivo. Giacometti & Bersosa (2006), señalaron que las especies de este grupo, son organismos tolerantes a alta contaminación por materia orgánica, lo cual permite establecer que los parámetros físico-químicos del agua, no influyeron en los rangos de abundancia obtenidos para este grupo, y sí la posible incidencia de consumo por parte de los animales en cultivo.

La presencia o ausencia de determinadas especies o grupos taxonómicos algales dentro de una comunidad fitoplanctónica, responde a una serie de factores dentro de los cuales se destaca principalmente la disponibilidad de luz (González, 2010). De esta forma, cabe destacar que la baja presencia de microalgas durante la estabilización del sistema, e incluso su desaparición durante el cultivo, se sugiere como consecuencia de las condiciones en las cuales se desarrolló el sistema biofloc en el presente estudio (bajo techo y cubierta de polisombra 80 % de retención) con el fin de evitar la contaminación del sistema y mantener una mayor homogeneidad de la temperatura en los tratamientos.

Del grupo de las microalgas fueron identificadas nueve especies durante la estabilización del sistema, entre las que se destacan *Scenedesmus quadricauda* (Clorófito), especie de mayor presencia en el sistema, seguida de *Navicula* sp (Diatomea) y *Lyngbya limnetica* (cianobacteria). Ray et al. (2010b) encontraron que las clorófitas son dominantes sobre las diatomeas en este tipo de sistemas; mientras que, Monroy-Dosta et al. (2013) reportaron que son las diatomeas las dominantes. Estas diferencias de resultados podría explicarse con lo sugerido por Kuang et al. (2004); quienes consideraron que la cantidad y calidad de nutrientes contenidos en el medio y al consumo selectivo que tienen ciertas especies de ciliados y rotíferos que controlan las poblaciones microalgales. Riquelme & Avendaño (2003) y Monroy-Dosta et al. (2013), mencionaron la importancia de la relación microalga-bacteria como determinante de los grupos que se desarrollan en los ambientes acuáticos, de tal manera que el aumento de bacterias transformadoras de carbono, posibilitan un incremento de diatomeas en el sistema y restringe a otros grupos como las cianobacterias, tal como fue registrado en el presente estudio.

La diversidad, uniformidad y dominancia de los microorganismos encontrados en los tratamientos durante el cultivo de peces en sistema biofloc en el presente estudio, muestra que la diversidad sólo superó el rango de 2 bits/ind, indicando que, en este tipo la diversidad de especies es relativamente baja; mientras que su uniformidad o equitatividad es relativamente alta. Por su parte la dominancia obtuvo sus mayores valores cuando paralelamente se observó un decrecimiento en los valores de diversidad. Bravo-Nuñez (1991) afirmó que un índice bajo de diversidad sólo puede indicar que existen pocas especies en relación al total de individuos caracterizados en un sistema; lo cual es previsible al tratarse de un sistema de producción cerrado y con utilización de inóculos seleccionados.

La caracterización hecha a las comunidades bacterianas asociadas al floc muestran que los bacilos Gramnegativos estuvieron representados por la familia Enterobacteriaceae: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Enterobacter* sp, *Klebsiella* sp. y *Proteus* sp., la familia Vibrionaceae con las especies *Vibrio arginolyticus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio* sp., además de *Pseudomonas* sp. Del grupo de los bacilos Grampositivos esporulados se aislaron *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus* sp. Entre los cocos Grampositivos se aisló *Micrococcus* sp. y *Staphylococcus* sp.; dos cepas de sulfito reductoras, fueron aislados, entre las cuales *Salmonella* sp fue identificada mediante la serie bioquímica. Estos resultados en general coinciden con los reportes de Monroy-Dosta et al., (2013), quienes determinaron dentro de comunidad microbiana asociada al biofloc en un cultivo de tilapia, géneros de bacterias heterotróficas como: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Vibrios*, *Enterobacter* y *Micrococcus*.

El crecimiento de bacterias en función de los días de cultivo muestran como valor máximo el día 60 ($4,2 \pm 0,7$ UFC/cm²) y el mínimo se dio en el día 90 ($1,9 \pm 0,6$ UFC/cm²),

con variación durante el experimento. Estas diferencias entre los días de muestreo se vieron marcadas por la remoción o cosechas periódicas del floc, afirmación que es respaldada por los estudios de Ray *et al.*, (2012), en donde al reducir la cantidad de sólidos suspendidos totales (TSS) en el cultivo, se observa una disminución en la abundancia bacteriana del sistema.

La máxima abundancia se alcanzó al final del experimento (día 120), en el tratamiento con T32%, $1,5 \times 10^6 \pm 1,6 \times 10^5$ UFC/ml. Valores similares a los obtenidos por Merchán (2014) en sistema de biofloc, reportó concentraciones máximas de bacterias totales entre $1,30 \times 10^6$ y $1,60 \times 10^7$ UFC/ml. En cuanto a la abundancia de bacterias en función de la concentración de proteína, se presentó en el tratamiento T24% con una densidad media de $9,9 \times 10^5$ UFC/ml, y la menor se dio en el tratamiento T32% ($7,3 \times 10^5$ UFC/ml), observándose diferencias significativa entre tratamientos ($p < 0.05$). Estos resultados confirman lo citado por Kubitzka (2011); para una adecuada formación de flóculos microbianos es importante mantener una óptima relación C:N, la cual va a depender de los niveles de proteína de la ración utilizada. Cuanto mayor sea el porcentaje de proteína, mayor será el contenido de nitrógeno en la ración, resultando en residuos con baja relación C:N, trayendo como consecuencia una menor densidad de bacterias en el sistema. Además Azim & Little, (2008) en la producción experimental de proteína microbiana con dos niveles de proteína (22% y 35%), concluyen que la concentración de nutrientes va a depender del nivel de proteína, confirmando una mayor biomasa bacteriana a menores niveles de proteína en el alimento.

La composición estructural y funcional de las comunidades bacterianas es el principal índice del estado de los ecosistemas y se caracterizan por una actividad fisiológica alta y rápida respuesta a los cambios ambientales, siendo las bacterias heterotróficas, las más inestables ante estos cambios y fluctuaciones de los factores abióticos del sistema (Bastardo *et al.*, 2007).

Para este estudio se establecieron cepas aisladas en los diferentes tratamientos y fases del cultivo, un número máximo de 15 morfoespecies, entre las cuales 6 de ellas se mantuvieron durante todo el ciclo, para todos los tratamientos (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Vibrio arginolyticus*, *Vibrio* sp., *Micrococcus* sp. y bacterias sulfito reductoras), algunas especies no se detectaron en los primeros días de cultivo pero si al final de éste, como *Bacillus subtilis*, *Salmonella* sp, y *Proteus* sp. Otras se aislaron pasados a los 30, 60 y 90 días para todos los tratamientos y fueron desapareciendo al final del cultivo (día 120), como en el caso de *Staphylococcus* sp y *E. coli*, además de otras que se encontraron a los 90 días: *Vibrio cholerae*. Todo esto indica una variación en cuanto a la riqueza de especies relacionado con el tiempo de cultivo, más no con los tratamientos. Estos resultados son parecidos con los observados por Monroy-Dosta *et al.*, (2013), en sistema de biofloc, quienes encontraron bacterias patógenas del genero *Vibrio* al inicio del experimento y desaparecieron al final, con un incremento de *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Micrococcus* spp. Este comportamiento de disminución e inclusive desaparición, también lo señalan Wu & Lu (2012), quienes mencionan que uno de los beneficios en el uso del biofloc es la capacidad de exclusión competitiva que tienen ciertas poblaciones bacterianas heterótrofas sobre bacterias patógenas.

Para el análisis de similaridad entre los diferentes tratamientos y los rangos de tiempo examinados, existe similaridad entre la interacción tiempo-tratamiento, en el cual se pudo corroborar con respecto a la presencia de las diferentes cepas en un 85%, formando dos grupos diferenciables: Las cepas que aparecieron en los primeros 60 días y otras en los

últimos, con la interacción entre los tratamientos y su desarrollo en el tiempo (día/% proteína bruta). En el primer grupo se observó una similitud de un 100 % para todos los tratamientos en el día 90, y una similitud superior al 95 % entre un subgrupo formado en el día 120 (T24%) y el día 120 (T16%) con 120 (T32%). Mientras que el segundo grupo se asemejan en un 95% las variables día 30 (T16%) y día 30 (T24%) con día 30 (T32%), además de otro subgrupo con aproximadamente una similitud de 93% entre los días 60 (T16%) y 60 (T32%) con el día 60 (T24%).

Al estimar la similaridad entre grupos bacterianos con respecto al tratamiento o nivel de proteína bruta se confirma la presencia de dos grandes grupos: En el primero lo conforman las bacterias del grupo *Bacillus subtilis* y *Proteus* sp. y *Vibrio cholerae* con menor frecuencia en los tanques del experimento con una similaridad de 67% en comparación con el segundo grupo el cual está representado por las bacterias más ubicuarias como son *Micrococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Vibrio arginolyticus*, *Vibrio* sp., *Klebsiella* sp., y especies sulfito-reductoras, junto con *Enterobacter* sp.; *Salmonella* sp.; *Staphylococcus*, *E. coli* y *Bacillus cereus*.

Kesarcodi-Watson *et al.*, (2008) sugieren que las bacterias heterotróficas en el sistema podrían tener efectos prebióticos con efecto inmunoestimulante, aumentar la conversión de alimento, inhibir el crecimiento de patógenas, producen antibióticos y mejorar la calidad del agua, es por eso que en el sistema de biofloc se recomienda que la diversidad bacteriana se mantenga, para que se favorezca la colonización de estas bacterias. Rose *et al.*, (2015) afirman que la actividad inhibidora del sistema de cultivo biofloc contra algunas especies del genero *Vibrio* puede atribuirse a la presencia de *Micrococcus luteus* exhibiendo una fuerte actividad lítica contra este patógeno *Vibrio*.

Es importante resaltar que *M. luteus* estuvo presente en todo el período de cultivo, lo cual es una ventaja que se utilice flora autóctona, teniendo en cuenta que las cepas patógenas generalmente provienen de cultivos alóctonos. La propiedad antagonista del aislado *M. luteus* podría ser debido a las secreciones de compuestos que son tóxicos (bactericida) o inhibidor (bacteriostático) hacia otros microorganismos (Lara-Flores, 2011).

Rattanachuy *et al.*, (2010) muestran que la actividad antibacteriana contra la bacteria *Vibrio* sp. por parte de *Pseudomonas* sp., se manifiesta por eliminar al *Vibrio* con la producción de metabolitos secundarios y la lisis de las células con proteasas extracelulares, estrategia inhibidora empleada por esta última especie para controlar a *Vibrio* como competidor y utilizar como una fuente de nutrientes, especie que también se presentó en todo el cultivo para todos los tratamientos. Kafilzadeh *et al.*, (2014) informaron de un aislado de *Micrococcus luteus* con propiedades antagonistas *in vitro* contra *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. y *Vibrio cholerae* indica la fuerte actividad antagonista contra los patógenos Gram negativos.

6.7 Conclusión

Es importante destacar la presencia de microorganismos planctónicos de gran importancia biológica y nutricional como rotíferos, vorticelas, nemátodos, anélidos,

paramecios y amebas. La composición de las comunidades planctónicas fue similar en todos los tratamientos e independiente del porcentaje de proteína evaluado; siendo rotíferos y amebas los grupos de mayor abundancia.

Las bacterias heterotróficas aisladas en este sistema de biofloc corresponde a los mismos grupos taxonómicos típicamente encontrados en sistemas acuícolas como: *Enterobacteriaceas*, *vibrionaceas*, *Pseudomonadaceae* y *Bacilariaceae* (Cogollo & Acosta, 2003). Con abundancia absoluta (UFC.mL⁻¹) y crecimiento exponencial, evidenciado principalmente en el tratamiento T24% PB. Es importante resaltar que la riqueza específica, no varió con respecto a la concentración de proteína, pero si en relación a los períodos de muestreo, además de presentar una elevada similaridad en cuanto a la presencia y ausencia de grupos bacterianos y la interacción entre los tratamientos y el tiempo de cultivo. La incorporación de cepas bacterianas heterotróficas específicas al sistema biofloc, contribuye al equilibrio del sistema a través de la competencia interespecífica mediante el principio de exclusión competitiva, desplazando especies potencialmente patógenas y favoreciendo el desarrollo inmunitario de los peces.

6.8 Bibliografía

Arregui L, Linares M, Pérez-Uz B, Guinea A, Serrano S. Involvement of crawling and attached ciliates in the aggregation of particles in wastewater treatment plants. *Air, Soil and Water Research*. 2008; 1: 13-19.

Arregui L, Serrano S, Linares M. Ciliate contributions to bioaggregation: laboratory assays with axenic cultures of *Tetrahymena thermophila*. *International Microbiology*. 2007; 10: 91–6.

Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 2007; 264:140-147.

Avnimelech Y, Verdegem M, Kurup M, Keshavanath P. "Sustainable land-based aquaculture: rational utilization of water, land and feed resources," *Mediterranean Aquaculture Journal*. 2008; 1: 45–55

Avnimelech Y, Kochba M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. *Aquaculture*. 2009, 287: 163-168.

Ayazo-Genes JE, Pertuz-Buelvas VM, Bru-Cordero SB, Atencio-García VJ, Pardo-Carrasco SC. Ensayos preliminares en la preparación y estabilización de un inóculo de biofloc para cultivo de peces. En: VI Congreso Colombiano de Acuicultura. Octubre 8-10, Villavicencio, Colombia, 2014. p. 57.

Azim M, D Little. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 2008; 283: 29-35.

Balech E. Dinoflagelados del Atlántico sudoccidental. Publicaciones especiales, Instituto Español de Oceanografía, Madrid 1988; 1: 310.

Boltovskoy E. Late Cenozoic benthonic Foraminifera of the Ninetyeast Ridge (Indian Ocean). *Mar Geology* 1978; 26: 139–78.

Bravo-Núñez E. Sobre la cuantificación de la diversidad ecológica. *Hidrobiológica*. 1991; 1:87-93.

Castro M, Castro B, Castro J. Protozoarios en: alimento vivo para organismos acuáticos. AGT Ed, México; 2004; 129.

Cogollo, X. y Acosta D. Caracterización de la Flora Bacteriana Predominante en la Estación Piscícola CINPIC - Departamento de Córdoba. Trabajo de grado Profesional en Acuicultura. Universidad de Córdoba. Montería- Colombia. 2003.

Crab R, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 2012; 351–56.

De Lara AR. *Panagrellus redivivus* (Nematoda) cultivado en medio de avena enriquecido con *Spirulina* sp. para probar el crecimiento de la población y calidad nutritiva. [Tesis de maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México. 2005; 72.

Ebeling J, Timmons M, Bisogni J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture in aquaculture production systems. *Aquaculture*, 2006, 257:346–58.

Emerenciano M, Gaxiola G, Cuzon G. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. *InTech*, cap 12, 2012. p. 301.

FAO. Fisheries and aquaculture information and statistics service. FAO: Roma; 2012.

Focken U, Schlechtriem C, Von W, García O, Puello C, Becke K. *Panagrellus redivivus* mass produced on solid media as live food for *Litopenaeus vannamei* larvae 2006; 37:1429-36.

Giacometti C, Bersosa F. Macroinvertebrados acuáticos y su importancia como bioindicadores de calidad del agua en el río Alambi. *Boletín técnico* 6, serie Zoológica; 2006; 2:17-32.

González L. Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. 2010. 65p.

Hargreaves A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 2006; 34:344–63.

Kafilzadeh, F., Ziarati M. and Keysami M.A. Putative bacterial flora assessment in juvenile *Litopenaeus vannamei* as probiotics by using antibacterial activity tests. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, 2014. 11: 507-515

Kesarcodi-Watson A, Kaspar H, Lategan MJ, Gibson L. (2008). Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture* 274:1–14.

Kuang Q, Bi Y, Xia Y, Hu Z. Phytoplankton community and algal growth potential in Taipinghu reservoir, Anhui Province, China. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 2004; 9: 119-24.

Kubitza F. Tecnología e planejamento na produção comercial. Ed do Autor 2007, Brazil. 2011a; 2: p: 285.

Kubitza, F. Criação de tilapias em sistemas com bioflocos sem renovação de água. *Panorama da Aquicultura* 2011b; (21) 125:14-23.

Lango J. Floc bacteriano: producción comercial de tilapia en sistemas cerrados. Caso México. Presentado en FISH RAPCO. Jalisco, México. 2012.

Lara-Flores M. The use of probiotic in aquaculture: An overview. *Int. Res. J. Microbiol.*, 2011.; 12: 471-478.

Loureiro K, Wilson W, Abreu P. Utilização de protozoários, rotíferos e nematódeos como alimento vivo para camarões cultivados no sistema BFT. *Atlântica*, Rio Grande; 2012; 34(1): 5-12.

Madigan, M., J. Martinko, P. Dunlap, D. Clark, D. Brock. *Biología de los Microorganismos*. Doceava edición. Ed. Pearson. España. 2009.

Makino, M., H. Matsuda and Y. Sakurai. Expanding fisheries co-management to ecosystem-based management: A case in the Shiretoko World Natural Heritage area, Japan. *Marine Policy* 2009; 33:207-214.

McIntosh B, Samocha T, Jones E, Lawrence A, Mckee D, Horowitz S, Horowitz A. The effect of a bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with low-protein diet on outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering* 2000; 21: 215-27.

Merchán, L.A. Dinámica del biofloc en cultivo intensivo de post-larva del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en un sistema de raceways, taura – 2013. (Tesis de pregrado). Facultad de Ciencias del Mar Escuela de Biología Marina. Universidad Estatal Península de Santa Elena. La Libertad, Ecuador. 2014.

Mesa-Granda M, Botero-Aguirre M. La cachama blanca *Piaractus brachypomus*, una especie potencial para el mejoramiento genético. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2007; 20 (1): 79-86.

Monroy-Dosta M, De Lara-Andrade R, Castro-Mejía J, Castro-Mejía G, Coelho-Emerenciano M. Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 2013; 48(3):511-20.

Pérez A. Aplicación y evaluación de un reactor de contactores biológicos rotativos (RBC o biodiscos), a escala de laboratorio como tratamiento de los lixiviados generados en el relleno sanitario de la Pradera. [Tesis de MSc]. Universidad de Medellín; 2010.

Pérez-Uz B, Arregui L, Calvo P, Salvadó H, Fernández N, Rodríguez E, Zornoza A, Serrano S. Parámetros biológicos relacionados con la eliminación de nitrógeno en fangos

activos. Análisis multivariante en el desarrollo de un índice biológico en estos sistemas. Asociación Científica Grupo Bioindicación de Sevilla. 2009; 1-6.

Pielou E. Ecological diversity. Wiley, New York; 1975; 165.

Pineda H, Zuluaga C, Vertel D. Evaluación de la morfometría y del hábito alimenticio en tilapia roja *Oreochromis* sp y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* var. Chitralada bajo diferentes condiciones de manejo en dos granjas piscícolas del occidente antioqueño. Revista Politécnica. 2012. 8 (14); 97-104.

Poleo G, Aranbarrio J, Mendoza L, Romero O. Cultivo de cachama blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. Pesquisa Agropecuaria Brasileira. 2011; 46 (4): 429-437.

Rattanachuay, P., D. Kantachote, M. Tantirungkij, T. Nitoda and H. Kanzaki. Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by extracellular compounds from a proteolytic bacterium *Pseudomonas* sp. W3. Electron. J. Biotechnol., 2010. Vol 13. 10.2225.

Ray A, Lewis B, Browdy C, Leffler J. Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. Aquaculture 2010a; 299(1-4):89-98.

Ray A, Seaborn G, Leffler J, Wilde S, Lawson A, Browdy C. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. Aquaculture, 2010b; 310:130–8.

Ray, A., G. Seaborn, L. Vinatea, C.L. Browdy y J.W. Leffer. Effects of biofloc reduction on microbial dynamics in minimal-exchange, superintensive shrimp, *Litopenaeus vannamei*, culture system. Journal of the World Aquaculture Society. 2012; 43 (6).

Riquelme C, H Avendaño. Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y su potencial uso en acuicultura. Revista chilena de historia natural 2003; 76: 725-36.

Rose A. Rex M. Valeriano L. Anti-*Vibrio harveyi* Property of *Micrococcus luteus* Isolated from Rearing Water under Biofloc Technology Culture System. Current Research in Bacteriology, 2015. 8: 26-33.

Saavedra M. Manejo del cultivo de tilapia. Managua, Nicaragua 2006; p 3-6.

Serrano S, Arregui L, Perez-Uz B, Calvo P, Guinea A. Comunidades protistas asociados a plantas con eliminación de nitrógeno. Asociación científica grupo bioindicación de Sevilla 2008: 1:1-4.

Sklan D, Prag T, and Lupatsch I. Apparent digestibility coefficients of feed ingredients and their prediction in diets for tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus* (Teleostei, Cichlidae). Aquaculture Research. 2004; 35:358-364.

Streble H, Krauter D. Atlas de los microorganismos de agua dulce. La vida en una gota de agua. Barcelona: Omega S.A; 1987.

Taylor F. Dinoflagellates from the Internacional Indian Ocean expedition. Bibliotheca Botanica. Stuttgart 1976; 132:23.

Tortora, G.J. Funke, B.R. Case, C.L. Introducción a la microbiología. Novena edición. Ed. Panamericana S.A. Madrid. España. 2007.

Vásquez-Torres W. Retrospectiva del cultivo de las cachamas en Colombia. II Congreso nacional de acuicultura. Universidad de los Llanos, Villavicencio; 2004; p. 71-73.

Vidal L. Estudio del fitoplancton en el sistema lagunar estuarino tropical Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia, durante el año 1987. [Tesis MSc]. Universidad Nacional de Colombia; 1995.

Wu X, Lu P. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture*. 2012; 356-357: 147-152.

Yacubson S. Algas de ambientes acuáticos continentales nuevas para Venezuela (Cyanophyta, Chlorophyta). *Bol. Centro Investigación Biológica. Univ. Zulia. Venezuela*; 1969; 3: 87.

Yacubson S. Catálogo e iconografía de las Cyanofyta de Venezuela. *Bol. Centro Investigación Biológica. Univ. Zulia. Venezuela*; 1972; 5:78.

A. Anexo: Alimento balanceado para tratamientos – composición proximal

La composición del floc fue evaluada en referencia al suministro de tres niveles de proteína a las unidades de cultivo de las especies Cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) y Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en sistema biofloc, correspondientes a los tratamientos evaluados 16%PB (T16); 24%PB (T24) Y 32%PB (T32). Se caracterizó bromatológicamente el floc en bicultivo de Cachama blanca y Tilapia nilótica, producido y colectado de los tanques de cultivo del biofloc en fase de engorde

| Nutrientes | 16% PB | 24% PB | 32% PB |
|------------------------|--------|--------|--------|
| Proteína cruda (%) | 16.0 | 24.0 | 32.0 |
| Energía bruta cal/g | 3400.0 | 3400.0 | 3400.0 |
| Grasa (%) | 6.0 | 4.3 | 2.6 |
| Fibra cruda (%) | 5.1 | 4.9 | 4.0 |
| Cenizas (%) | 11.7 | 11.8 | 8.5 |
| Lisina (%) | 0.9 | 1.4 | 1.8 |
| Metionina (%) | 0.4 | 0.6 | 0.7 |
| Met-cis (%) | 0.6 | 1.0 | 1.2 |
| Treonina (%) | 0.6 | 0.9 | 1.2 |
| Triptófano (%) | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
| Arginina (%) | 1.1 | 1.7 | 2.3 |
| Calcio (%) | 2.5 | 2.5 | 1.3 |
| Fosforo disponible (%) | 0.7 | 0.7 | 0.7 |
| Sodio (%) | 0.4 | 0.4 | 0.3 |
| Potasio (%) | 4.1 | 1.5 | 1.5 |
| Cloro (%) | 0.6 | 0.5 | 0.2 |
| Almidón (%) | 35.2 | 25.9 | 21.5 |

B. Anexo: Tasa de inclusión y formulación de las dietas elaboradas en el Laboratorio de Nutrición Acuícola de Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá

| INGREDIENTES | 16% | | 24% | | 32% | | CANTIDAD TOTAL REQUERIDA (KG) |
|-----------------------|-------|--------|-------|--------|-------|---------|-------------------------------|
| | % | KILOS | % | KILOS | % | KILOS | |
| ARROZ CRISTAL | 0,270 | 53,920 | 0,150 | 30,000 | 0,150 | 30,000 | 113,92 |
| HNA TRIGO | 0,100 | 20,000 | 0,150 | 30,000 | 0,150 | 30,000 | 80 |
| HARINA ARROZ 7% | 0,200 | 40,000 | 0,024 | 4,840 | 0,000 | 0,000 | 44,84 |
| SALVADO DE TRIGO | 0,200 | 40,000 | 0,200 | 40,000 | 0,038 | 7,640 | 87,64 |
| TORTA DE SOYA 47% | 0,132 | 26,340 | 0,329 | 65,860 | 0,609 | 121,740 | 213,94 |
| FRIJOL SOYA EXTR | 0,000 | 0,000 | 0,050 | 10,000 | | 0,000 | 10 |
| ACEITE DE SOYA | 0,010 | 2,000 | 0,010 | 2,000 | 0,010 | 2,000 | 6 |
| CARBONATO DE CALCIO | 0,045 | 9,020 | 0,044 | 8,740 | 0,003 | 0,520 | 18,28 |
| TRICALFOS | 0,028 | 5,500 | 0,027 | 5,440 | 0,032 | 6,320 | 17,26 |
| SAL | 0,008 | 1,520 | 0,008 | 1,540 | 0,002 | 0,400 | 3,46 |
| ROVIMIX PECES | 0,003 | 0,600 | 0,003 | 0,600 | 0,003 | 0,600 | 1,8 |
| DL METIONINA | 0,002 | 0,300 | 0,002 | 0,460 | 0,003 | 0,580 | 1,34 |
| LISINA HCL | 0,002 | 0,460 | 0,001 | 0,280 | | 0,000 | 0,74 |
| CLORURO DE COLINA 60% | 0,001 | 0,120 | 0,001 | 0,120 | 0,001 | 0,120 | 0,36 |
| L TEONINA | 0,001 | 0,180 | 0,001 | 0,100 | 0,000 | 0,020 | 0,3 |
| ANTIOXIDANTE | 0,000 | 0,040 | 0,000 | 0,040 | 0,000 | 0,040 | 0,12 |
| TOTAL | 1,0 | 200,0 | 1,0 | 200 | 1,0 | 200 | 600 |

