



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“Análisis del efecto sustitutivo de alimento comercial por Sistema Biofloc en cultivo dulceacuícola de camarón (*Litopenaeus vannamei*)”

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Medica Veterinaria Zootecnista

Autora:

Itali Monserrat Ortiz Nuñez

CI:1805247184

Director:

Luis Rodrigo Galarza Álvarez Msc.

CI: 0103305405

Cuenca - Ecuador

23-septiembre-2019



Resumen:

Con el objetivo de determinar la viabilidad productiva del sistema biofloc en cultivo dulceacuícola de *L. vannamei* Post larva 14 (PL14) durante 90 días, se emplearon un total de 25000 organismos; distribuidos en 3 lotes, cada uno con 5000 individuos: L1 con sus dos repeticiones: L2 y L3 conformaron el lote de estudio; Lote 4 = control positivo y Lote 5= control negativo; las PL fueron distribuidas mediante un diseño completamente al azar, se evaluaron las variables : supervivencia en el período de aclimatación y el análisis químico del agua(Nitrogeno Amoniacal Total). Durante el período de aclimatación (día 13) se registró la mortalidad del 100 % de las PL14 al alcanzar salinidades de 0 ppt. El desarrollo de los flóculos microbianos en agua dulce durante 14 semanas fue viable, reportando volúmenes de 16 ml/L. Se registró un desbalance iónico del ratio $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 2:5, en la calidad de agua usada para el período de aclimatación y el crecimiento de los flóculos. Se concluye que existió concentraciones altas de NAT (Nitrógeno Amoniacal Total) y variaciones de pH ($P < 0.05$) durante la aclimatación. Si embargo, no se reportó influencia de temperatura ($P > 0.05$) sobre el período de aclimatación y crecimiento del flóculo microbiano.

Palabras claves: Camarón Blanco. Agua dulce. Aclimatación.



Abstract:

To determinate the productive viability of the biofloc system in freshwater cultivation of *L. vannamei* Post larva 14 (PL14) for 90 days, n = 25,000 total organisms were used, distributed in 3 lots, each one with 5000 individuals: L1 with two repetitions: L2 and L3, formed the study lot; Lot 4= positive control, Lot 5= negative control, the PL were distributed by a completely randomized design, the studied variables were: survival in the acclimation period and water chemical analyzes (Total Ammoniacal Nitrogen). However, in the acclimation period (day 13), mortality of 100% of the PL14 was recorded when reaching salinities of 0 ppt. The development of microbial flocks in fresh water for 14 weeks was viable, reporting volumes of 16 ml / L. An ionic imbalance of the Na +: K + 2: 5 ratio was noted in the quality of the water used for the acclimation period and flocs development. It is concluded that, there are high variations of NAT (Total Ammoniacal Nitrogen) and pH variations ($P < 0.05$) during acclimation. However, no temperature influence ($P > 0.05$) on the period of acclimation and growth of the microbial floc was reported.

Keywords: White Shrimp. Freshwater. Acclimation.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	14
1.1.1. Objetivos.....	15
1.1.2. Objetivo general.	15
1.1.3. Objetivos Específicos.	15
1.1.3.1. Fase 1: Sistemas de aclimatación para Post larvas (PL14) y Formación del Biofloc	15
1.1.3.2. Fase 2: Bioensayo de cultivo <i>L. vannamei</i>	15
1.2. Hipótesis.....	16
2. REVISIÓN DE LITERATURA	17
2.1. Sistema Biofloc	17
2.1.1. Generalidades del Sistema Biofloc.....	17
2.1.2. Implementación de biofloc en Agua Marina	17
2.1.3. Uso de fuentes de carbohidrato en biofloc	18
2.1.4. Avances del cultivo biofloc	18
2.2. Sistema de Aclimatación	19
2.2.1. Generalidades del Sistema de Aclimatación	19
2.2.2. Implementación de Sistemas de aclimatación	20
2.2.3. Avances en sistemas de aclimatación.....	21
2.2.4. Mecanismo de Osmoregulación a bajas salinidades.....	21
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1. Materiales:	22
3.1.1. Biológicos:	22
3.1.2. Equipos de laboratorio:.....	22
3.1.3. Equipo y Materiales de Campo.....	22
3.1.4. Materiales Químicos:.....	23
3.1.5. Equipos de Oficina	23
3.2. Métodos:.....	23
3.2.1. Área de Estudio	24
3.2.2. Manejo del experimento	24
3.2.2.1. Fase 1: Sistemas de aclimatación para Post larvas (PL14) y Formación del Biofloc	24
3.2.2.1.1. Sistemas de aclimatación para Post larvas (PL14)	25



3.2.2.1.2. Tanques de Aclimatación	25
3.2.2.1.3. Sistema de Aireación	25
3.2.2.2. Sistemas Biofloc	26
3.2.2.2.1 Sistema de Aireación	26
3.2.2.2.2. Formación del biofloc	26
3.2.2.3. Fase 2: Bioensayo de cultivo <i>L. vannamei</i>	27
3.2.2.4.1. Parámetros fisicoquímicos.....	27
3.2.2.4.2. Mantenimiento de la Alcalinidad del agua.....	27
3.2.2.4.3. Monitoreo del flóculo Microbiano	28
3.3. Diseño experimental y Análisis estadístico.....	28
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1. Resultados.....	28
4.1.2. Fase 1: Aclimatación de Post Larvas (PL).....	28
4.1.1. Fase1 : Formación del biofloc	34
4.1.3. Fase 2 : Bioensayo de cultivo <i>L. vannamei</i>	40
4.2. Discusión	41
4.2.2. Fase 1: Aclimatación de Post Larvas (PL).....	41
4.2.1. Fase 1: Formación del biofloc	43
4.2.3. Fase 2: Bioensayo de cultivo <i>L. vannamei</i>	44
5. CONCLUSIONES	46
6. RECOMENDACIONES	47
7. BIBLIOGRAFÍA	48
8. ANEXOS	53



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa geopolítico; ubicación de la colonia Nicolás Martínez (N.M.) en la Parroquia Rio-Negro (GAD Baños de Agua Santa, 2011)	24
Figura 2. Análisis químico de la calidad de agua. AGROLAB (2019).....	27
Figura 3. Salinidad de los organismos, L2 y L3.....	30
Figura 4. Variación en las concentraciones de NAT en L2	31
Figura 5. Variación en las concentraciones de NAT en L3.	31
Figura 6. Variaciones de pH y temperatura en Lote 2 y Lote 3.	32
Figura 7. Variaciones de pH, Oxígeno, y NAT en el Lote 5.....	32
Figura 8. Relación de alcalinidad y pH, Lote 5.....	33
Figura 9. Salinidad y Temperatura en el Lote 5.	33
Figura 10. Tratamiento 1, Maduración del biofloc y su estabilización en crecimiento hacia la semana 14.	34
Figura 11. Tratamiento 2, Maduración del biofloc y su estabilización en crecimiento hacia la semana 14.	34
Figura 12. Tratamiento 1, disminución de los niveles NAT a medida que crece y se estabiliza el flóculo.	35
Figura 13. Tratamiento 2, disminución de los niveles NAT a medida que crece y se estabiliza el flóculo.	35
Figura 14. Tratamiento 1, disminución en los niveles de oxígeno a medida que crece el flóculo bacteriano.	36
Figura 15. Tratamiento 2, disminución en los niveles de oxígeno a medida que crece el flóculo microbiano.	36
Figura 16. Tratamiento 1, Fluctuaciones de temperatura sobre el crecimiento del floculo bacteriano.	37
Figura 17. Tratamiento 2, Fluctuaciones de temperatura sobre el crecimiento del floculo bacteriano.	37
Figura 18. Tratamiento 1, Crecimiento en las concentraciones de Salinidad TDS y flóculo.	38
Figura 19. Tratamiento 2, Crecimiento en las concentraciones de Salinidad TDS y flóculo.	38
Figura 20. Tratamiento 1, Variaciones de pH y alcalinidad sobre el floculo.	39
Figura 21. Tratamiento 2, Variaciones de pH y alcalinidad sobre el floculo.	39



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Supervivencia de las PL en cada uno de los lotes.	29
Tabla 2. Diferencia entre concentraciones de salinidad y floculo de los tratamientos 1 y 2 durante la semana 4, 10 y 14.....	40



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos 1. Construcción de tanques para sistemas de cultivo.	53
Anexos 2. Instalación de sistemas de aireación en tanques Biofloc.	54
Anexos 3. Turbidez del tanque, formación del biofloc.	54
Anexos 4. Niveles altos de NAT 8mg/L.....	55
Anexos 5. Descenso de los niveles de NAT 0.025 mg/L	55
Anexos 6. Medición de floculo microbiano en conos Imhoff.	56
Anexos 7. Medición de larvas.	56
Anexos 8. Mortalidad de larvas.....	57
Anexos 9. Tamaño irregular en el crecimiento de las PL.....	58
Anexos 10. PL14 del Lote 5 control negativo, salinidad 3 ppt.....	58
Anexos 11. Lote 5, día de cultivo 6, edad de las PL :20 días.....	59
Anexos 12. Post larvas del Lote 5, edad: 30 días.....	59
Anexos 13. Sedimentos de los tanques de aclimatación.	60
Anexos 14. Equipos usados en la investigación, multiparámetros(I) y oxímetro(D).....	60
Anexos 15. Reactivos empleados para la medición de NAT y Alcalinidad	61
Anexos 16. Calentadores usados en los tanques de aclimatación.	61

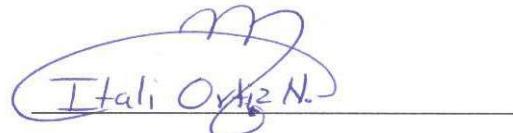


Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Yo, Itali Monserrat Ortiz Nuñez en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Análisis del efecto sustitutivo de Alimento Comercial por Sistema Biofloc en cultivo dulceacuícola de camarón (*Litopenaeus vannamei*)”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 23 de septiembre del 2019



Itali Monserrat Ortiz Nuñez

C.I: 1805247184



Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo, Itali Monserrat Ortiz Nuñez, autora del trabajo de titulación "Análisis del efecto sustitutivo de Alimento Comercial por Sistema Biofloc en cultivo dulceacuícola de camarón (*Litopenaeus vannamei*)", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 23 de septiembre del 2019

Itali Monserrat Ortiz Nuñez

C.I: 1805247184



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia, mi madre Fabiola, mis tíos Gilberto, Beatriz, Gloria y mis primos Israel, Mayra y Sebastián por su apoyo incondicional y motivación a lo largo de esta carrera, pese a la distancia y los obstáculos que se han presentado.

A mi hermano Biól. Gabriel Vaca Nuñez por su asesoramiento en el desarrollo de esta tesis y su respaldo para la culminación en esta investigación.

A los doctores Diego Rodríguez, Luis Galarza, Guillermo Guevara, Luis Ayala, Antonio Vallecillo, Yuri Murillo, Guillermo Serpa, Fabian Astudillo, Jorge Dután, José Miranda y a los Ingenieros Eduardo Chica, Pedro Nieto por su ayuda en la realización de esta tesis.

A mis amigos Tania, Mateo, Mauricio por los momentos y experiencias compartidas, mi pequeña familia en esta hermosa ciudad. A Daniela, David, Nadia, Michelle, Karen, Wilkinz y Karina por su amistad, amor y apoyo en los momentos más difíciles.

Itali Monserrat Ortiz Nuñez



DEDICATORIA

A mis abuelos Luis , Soledad y a mi madre Fabiola, mis grandes amores.

Itali Monserrat Ortiz Nuñez



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

BF : Biofloc.

BFT: tecnología biofloc

NAT: Nitrógeno amoniacal total

PL: Post Larvas

m: metros

g: gramos

mg: miligramos

μ: micras

°C: grados centígrados.

t: tonelada

ha: hectárea.

cam: camarón

m²: metro cuadrado

ppt: partes por mil

ppm: partes por millón



1. INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores desafíos a nivel mundial es, abastecer la demanda alimenticia de más de 9.000 millones de personas para el año 2050; en términos de este propósito, se plantea el uso de prácticas acuícolas, como el cultivo de especies marinas en medios dulces y que brinden seguridad alimentaria. La acuicultura como práctica ha alcanzado un importante desarrollo productivo frente a la pesca, superándola, en el 2014 con 73.8 millones de toneladas(FAO, 2016). Actualmente representa el 44,1% de la producción acuícola global. En América Latina y el Caribe se produce el 76% del pescado de agua dulce además del 42% del camarón que se consume en el mundo(FAO, 2017).

Ecuador es el tercer país de la región dedicado a la práctica acuícola, por consiguiente, la camaricultura se ha convertido en una gran fuente económica; su comercialización permite ingresos de 2372 millones de dólares equivalente al 19% de las exportaciones no petroleras(Darwin, 2015); por lo tanto el sector camaronero demanda la implementación de biotecnologías que generen bajo impacto ambiental y ayuden a reducir costos de inversión y producción. La acuicultura de *L. vannamei* en agua dulce se desarrolla con gran potencial, estudios (Leon, 2015) demuestran que la larva tiene una supervivencia del 70 a 80%, a temperatura de 24 °C en este medio, pero, la alimentación representa el 50% de los costos de producción(Emerenciano, 2011).

La implementación de tecnología biofloc en la camaricultura de agua dulce, podría reducir el uso y desperdicio del alimento (Leon, 2015). Además el sistema biofloc evita el recambio de agua de los estanques(Emerenciano, Ballester, Cavalli, y Wasielesky, 2012), además , la cantidad de nitrógeno inorgánico producida por el metabolismo de los camarones es controlada gracias al crecimiento de organismos heterotróficos que compiten por las fuentes de nitrógeno (Emerenciano, 2013). El crecimiento de estos organismos se logra por el uso de fuentes de carbono, obteniendo 1.6 kg de biomasa por cada kilogramo de fuente de carbohidrato(Leon, 2015). La acumulación de microrganismos permite la formación del flóculo, del cual se alimentan mayormente los camarones, cada mililitro de flóculos contiene entre 10-30 mg de materia seca(Avnimelech, 2014).

Otro aspecto a resaltar de los biofloc es su actividad probiótica, prebiótica, antibiótica y antifúngica (Ekasari, 2014). Los microorganismos formadores del flóculo, primordialmente los de las familias *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cianobacteria*, *Actinobacteria*, *Plantomycetes*, *Verrumicrobia* (Cardona et al., 2016), actúan como ácidos orgánicos, ejerciendo un bio-control en el intestino del



camarón. Un componente sintetizado por estos microorganismos es el granulo de poly- β -hydroxybutyrate (PHB), el cual actúa como antibiótico inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas mediante la alteración en la permeabilidad de la pared bacteriana(Salmah, Ahmed, Atkinson, Desbois, y Little, 2018). A nivel externo los componentes del flóculo compiten contra los patógenos por el espacio, substrato y nutrientes como el nitrógeno, lo que limita el crecimiento de microorganismos perjudiciales(Emerenciano, 2013).

En Ecuador no existe suficientes datos sobre el uso de biofloc en agua dulce para la crianza de *L.vannamei* aclimatado a Oppt; el implemento de esta biotecnología en el país permitiría la optimización de recursos naturales y cuidado ambiental, esto le otorgaría una mejor competitividad con los países productores de camarón como China y Tailandia(FAO, 2016).

1.1.1. Objetivos

1.1.2. Objetivo general.

Analizar el efecto de la sustitución de alimento comercial por sistema biofloc en cultivo dulceacuícola de camarón (*Litopenaeus vannamei*) para determinar su viabilidad.

1.1.3. Objetivos Específicos.

1.1.3.1. Fase 1: Sistemas de aclimatación para Post larvas (PL14) y Formación del Biofloc

- Evaluar la viabilidad de las Post Larvas 14 en medio dulceacuícola mediante el parámetro de supervivencia.
- Comprobar la formación de floculo microbiano en medio dulceacuícola mediante el descenso en las concentraciones del Nitrógeno Amoniacal Total (NAT).

1.1.3.2. Fase 2: Bioensayo de cultivo *L. vannamei*

- Comparar el efecto de los tratamientos sobre los parámetros productivos (factor de conversión alimenticia, ganancia de peso, supervivencia, tasa de crecimiento específica) de *L. vannamei*.



- Comparar el efecto de los tratamientos sobre los parámetros de calidad de agua (oxígeno disuelto, nitrógeno amoniacal total) en el sistema biofloc.

1.2. Hipótesis

La sustitución de alimento comercial por sistema biofloc en cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*) en agua dulce es viable para fines productivos.



2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Sistema Biofloc

2.1.1. Generalidades del Sistema Biofloc

El desarrollo de la tecnología biofloc inició en los años 70 en Francia, experimentando con el cultivo de *Penaeus monodon*, *Fenneropenaeus merguiensis*, *L. stylirostris* y *L. vannamei* (Cuzon, 2011). Sin embargo, en 1980 se iniciaron estudios que permitieron entender mejor la función del biofloc. Al inicio de 1990, Israel y USA incursionaron con el cultivo de tilapia y *L. vannamei* mediante el uso de sistemas biofloc. En Latinoamérica, la implementación del biofloc con fines comerciales, permitió que Belice alcanzará una producción de 26 ton/ha/ciclo de camarón (Emerenciano M, Cuzon, Goguenheim, y Gaxiola, 2011), donde se ratificó el beneficio productivo del sistema. Actualmente esta biotecnología se ha expandido mundialmente, por lo tanto, numerosos estudios se llevan a cabo en busca de un mejor entendimiento y aplicación del BFT.

La demanda alimenticia mundial y la creciente producción de especies acuáticas promueven la implementación de nuevas técnicas y sistemas de cultivo; de entre ellas, la tecnología biofloc es una metodología en creciente uso, debido a sus ventajas sobre la optimización de recursos naturales y económicos. La función del sistema biofloc radica en el crecimiento de microorganismos bajo un nulo recambio de agua. Los microorganismos compiten por el nitrógeno inorgánico (Emerenciano, 2013) y lo transforman en proteína microbiana, aprovechada como alimento en los cultivos de camarón.

2.1.2 Implementación de biofloc en Agua de Mar

Krummenauer (2011), plantea el cultivo (agua de mar) de *L. vannamei* a diferentes densidades bajo invernadero mediante sistemas biofloc. El mismo, indica que a densidades de 300 cam/m² para cultivos super-intensivos, obtiene una productividad 4,09 kg/m² (Krummenauer, Peixoto, Federal, Pernambuco, y Cavalli, 2017) en comparación con los cultivos tradicionales que alcanzan entre 0.177 y 0.350 kg/m². La calidad del agua no mostró niveles tóxicos de nitrógeno amoniacal y nitritos, no obstante, se registró niveles bajos de oxígeno disuelto 2.02 mg/L (letal: 1mg/L) (Hopkins, Browdy, y Sandifer, 1991) al tercer mes en todos los tratamientos. El porcentaje de supervivencia



no se vio afectado 75-92 %. Sin embargo, niveles bajos de pH se registraron (6.1-6.3) lo que pudo afectar el rendimiento productivo, debido a la densidad del cultivo.

Así mismo Emerenciano (2012), menciona que el uso de BFT en el cultivo (agua de mar) de larvas *fantepenaeus brasiliensis* durante 30 días, con el uso de dos fuentes de carbohidrato sin suplemento de alimento (melaza y salvado de trigo), produjo mayor crecimiento, peso y biomasa final del camarón en comparación con el sistema de flujo abierto, además la calidad del agua se conservó; no hubo diferencias significativas de nitrógeno inorgánico entre los sistemas BFT y el sistema de flujo abierto; el porcentaje de oxígeno disuelto se mantuvo dentro de los parámetros aceptables. La cantidad de sólidos suspendidos(TSS) fue de $257.88 \pm 105.21 \text{ mg L}^{-1}$; indicativo de un consumo positivo del biofloc por parte de los camarones (Emerenciano, 2012). El porcentaje de supervivencia fue de 67-80 % que se halla dentro del rango para *fantepenaeus brasiliensis*. Por lo tanto, el autor menciona que la camaronicultura mediante BFT resulta productivamente viable.

2.1.3. Uso de fuentes de carbohidrato en biofloc

Serra (2015), experimenta con el uso de diferentes fuentes de carbohidrato (melaza, dextrosa, salvado de arroz) más suplemento de alimento, usando sistemas biofloc durante la fase de larva y crecimiento de *L. vannamei*. La autora señala que el uso de melaza y dextrosa tienen mejor acción en cuanto a la reducción de nitrógeno inorgánico y por ende al mantenimiento del agua, debido a su rápida dilución, no así el salvado de arroz. Pese a esto el rendimiento productivo del tratamiento a base de salvado de arroz muestra un mejor porcentaje de supervivencia 88 %, productividad 2,03 kg/m³ e índice aparente de conversión alimenticia 2.03, en relación con el cultivo de dextrosa que obtuvo 82% de supervivencia, 1.23 kg/m² de productividad y 3.25 de índice aparente de conversión alimenticia(Gaona, Furtado, Poersch, y Wasielesky, 2015); esto puede deberse al mayor porcentaje de proteína (6%) que posee el salvado de arroz (Ekasari, 2014).

2.1.4. Avances del cultivo biofloc

Zhao (2016), plantea el efecto de diferentes fuentes de carbono (melaza, salvado de trigo) en los sistemas biofloc de *L. vannamei*, y el impacto en parámetros productivos, calidad de agua e inmunidad. Los resultados del estudio demuestran que la combinación de las dos fuentes de



carbohidrato en 50/50 %, obtuvo mejor desempeño en peso final 11,36 g y ganancia de peso 65.84 %; el rango de supervivencia 87-91 %, no tuvo diferencias significativas entre los tres tratamientos y el control. Cabe recalcar que Zhao (2016), contrasta con lo enunciado por Serra (2015), con respecto al efecto de la melaza y dextrosa sobre la diminución de nitrógeno inorgánico y nitritos; Zhao (2016), menciona que la combinación de melaza más salvado de trigo, es mayormente efectiva (0.10 mg/L- nitrógeno inorgánico) (Zhao, Pan, Huang, Wang, y Xu, 2016), comparada con la adición única de melaza.

Ballester (2017), menciona que el cultivo de *Macrobrachium rosenbergii* en agua dulce bajo sistemas biofloc es productivamente viable. Los resultados indican que no existieron diferencias significativas entre el sistema BFT y el de recirculación, sobre los parámetros de supervivencia, crecimiento específico y ganancia de peso. Por otra parte, si hubo diferencia significativa en el índice de conversión alimenticia, fue mejor para el sistema de recirculación. La calidad del agua se, mantuvo dentro de los parámetros normales, no obstante, la cantidad de nitrógeno inorgánico y nitritos fue mayor en BFT (Luis, Ballester, Marzarotto, y Castro, 2017) lo que explicaría el aumento del índice de conversión alimenticia en este tratamiento.

Conforme con las investigaciones realizadas sobre BFT, resulta productivamente viable su aplicación a la camaronicultura. No obstante, se requiere de nuevas investigaciones que demuestren si la aplicación de BFT en cultivos de agua dulce para *L. vannamei*, sea viable; también se carece de información sobre el uso de fuentes de carbohidrato, formadoras del flóculo microbiano, como único alimento y su efecto en el rendimiento productivo de camarones cultivados en agua dulce.

2.2. Sistema de Aclimatación

2.2.1. Generalidades del Sistema de Aclimatación

La innovación en acuacultura plantea nuevos desafíos como la adaptación de especies marinas a medio dulce. Acorde con Ednoff (2001), el cultivo de *L. vannamei* en agua dulce se desarrolla con gran interés en países de América como Estados Unidos y Brasil. La producción de estas especies requiere someterse a procesos de aclimatación para su adaptación al medio de cultivo en el que se desarrollaran productivamente. En términos generales, la aclimatación se refiere a un proceso de



adaptación de un organismo procedente de un medio habitual a un medio nuevo, con el que antes no ha tenido familiaridad según lo expuesto por Thi, Huong, Jayasankar, y Wilder (2010).

Crawford (1999), menciona que el cultivo de *L. vannamei* cultivado en salinidades inferior a 5 ppt, medio considerado como salobre, poseen desarrollo exitoso y no difiere de los camarones cultivados en medio salado tradicional. Sin embargo, Mcgraw (2002), menciona que no existen investigaciones, las cuales especifiquen una concentración específica de iones en agua dulce para *L. vannamei* y que permitan la adaptación de la especie al medio de cultivo.

Por otro lado (Kumlu y Jones, 1995) describe la importancia de la salinidad en parámetros de supervivencia y crecimiento de *L. vannamei*. No obstante, el autor menciona que debido a los cambios climáticos, aumento de pluviosidad y cambios en la salinidad marina, varias especies cultivadas en medios costaneros, han evolucionado y poco a poco se han ido adaptando a salinidades por debajo de los 8 ppt, lo que se conoce como período de aclimatación.

2.2.2. Implementación de Sistemas de aclimatación

William J Mcgraw y Scarpa (2004) plantean la aclimatación de *L. vannamei* a diferentes períodos de tiempo, el autor reporta que, lotes de 30 ppt de salinidad fueron sometidos a 32, 40 y 48 horas de aclimatación hasta llegar a 0 ppt. Los períodos de aclimatación se efectuaron con 0, 1 y 2 días de habituación a medio dulce. Como resultado se obtuvo que el lote sometido a 40 horas de aclimatación con 2 días habituación tuvo el 100 % de supervivencia en las post larvas, no así los lotes sometidos a 32 y 48 horas donde el porcentaje de supervivencia fue del 86 % aproximadamente para ambos casos. El mismo autor menciona que la aclimatación continua dentro de un periodo de tiempo específico no tiene significancia estadística sobre los lotes aclimatados en períodos con descenso de salinidades no continuas, los porcentajes de supervivencia fueron del 80 % para ambos casos. No obstante, Leal (2019), plantea que las larvas de *L. vannamei* son capaces de sobrevivir en condiciones de salinidad de 1 ppt, y este parámetro no es dependiente del período de aclimatación, el autor menciona que se obtienen porcentajes de supervivencia del 97 %, don ratifica que la concentración iónica en la salinidad 1 ppt es imprescindible para la supervivencia de las post-larvas.



2.2.3. Avances en sistemas de aclimatación

Sanjoy, Kumar, Arunachalam, Koyadan, y Vijayan (2019) reportan estudios más actualizados sobre la aclimatación de *L. vannamei* a bajas salinidades, los autores plantean la aclimatación de los organismos a diferentes salinidades de 35, 14, 10 y 3 ppt, sin especificación de límite de tiempo, donde los porcentajes de supervivencia no superaron el 78% para la salinidad 3 ppt, de la misma manera reportan que a salinidades por debajo de los 3 ppt los organismos ingresan en estrés de osmoregulación lo que compromete negativamente su supervivencia y desarrollo productivo. No se ha encontrado estudios actuales que aclimaten *L. vannamei* para llegar a salinidades 0 ppt.

2.2.4. Mecanismo de Osmoregulación a bajas salinidades.

La capacidad de osmoregulación en organismos acuáticos, se define como la diferencia entre el gradiente de concentración del medio exterior y la hemolinfa (Freire, Cavassin, Rodrigues, Torres, y McNamara, 2003). Para realizar este mecanismo fisiológico se necesita la activación de la bomba de Na^+ y K^+ ubicada en la membrana basolateral de las branquias ; a bajas salinidades la Na^+ y K^+ ATPasa incrementa su actividad, con el fin de balancear los iones del medio exterior con los de la hemolinfa (Siebers, Winkler, Lucu, y Thedens, 1985).

Los organismos en medios salados tienden a perder agua fácilmente por la superficie corporal, principalmente por las branquias, para compensar esta pérdida de líquido, el organismo ingiere grandes cantidades de agua con los solutos disueltos en ella. Los excesos de Na^+ y Cl^- son eliminados a través de las branquias permitiendo mantenerse hiposmóticos en relación con el medio exterior (Sommer y Mantel, 1991).

Las especies acuáticas adaptadas a bajas salinidades se enfrentan a un nuevo gradiente de contracción, donde ellos pasan de tener un medio hiposmótico a hiperosmótico, por lo tanto la bomba de Na^+ y K^+ ATPasa se activa y produce un efluente de Na^+ y Cl^- hacia el medio exterior para que no exista un ingreso excesivo de agua en el organismo causando, tumefacción de los tejidos y posterior muerte(Hurtado Oliva, 2004).



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales:

3.1.1. Biológicos:

- 25000 organismos de camarón blanco *L. vannamei* PL14 de BIOGEMAR S.A.

3.1.2. Equipos de laboratorio:

- Tubos Imhoff
- Waterproof Tester 99720: Equipo multiparámetros para agua (pH, conductividad, TDS, salinidad, temperatura).
- Aqua test Colombo Dorpsweg 11 NL-3257: Test de medición química para agua (Alcalinidad total [GH], Nitrógeno Amoniacal Total [NH3/NH4], Nitrito[NO₂], Nitratos[NO₃], Fosfato[PH₄]).
- Api Master test Test de medición química para agua (Alcalinidad total [GH], Nitrógeno Amoniacal Total [NH3/NH4], Nitrito[NO₂], Nitratos[NO₃], Fosfato[PH₄]).
- Oxímetro Milwaukee Mw600
- Balanza analítica MIX-SL marca LEXUS
- Ictiómetro

3.1.3. Equipo y Materiales de Campo.

- Alimento Comercial ABA Empagram S.A
- Harina de haba comercial
- Harina de arrocillo comercial
- Recipientes-tanques (35 litros) de polipropileno, color oscuro.
- Recipientes-tanques (100 litros) de polipropileno, color oscuro.
- Cobertor Malla Sombra.



- Mangueras de aireación de un octavo de pulgada color negro.
- Manguera para agua $\frac{3}{4}$ "
- Areador Air pomp 300 lh.
- Calentadores de 30 vatios
- Red de pesca cuchara
- Pesas 500 g
- Accesorios de PVC:

3.1.4. Materiales Químicos:

- Carbonato de calcio (CaCO_3)
- Superfosfato triple (P_2O_5)
- Urea 46%

3.1.5. Equipos de Oficina

- Laptop Samsung 7th Gen
- Cámara fotográfica Nikon 20.1
- Impresora Epson L555
- Resma de papel bond Xerox
- Tablero de registro

3.2. Métodos:

3.2.1. Área de Estudio

El experimento se llevó a cabo en el invernadero perteneciente a las instalaciones de ECCOPONIA en Rio Negro. El área de estudio se encuentra a 30 Km del cantón Baños, provincia de Tungurahua a una altitud de 1820 m.s.n.m.; latitud -1,4 longitud -78,2167, posee una temperatura promedio de 21°C, pluviosidad 1226 mm y clima tropical húmedo.

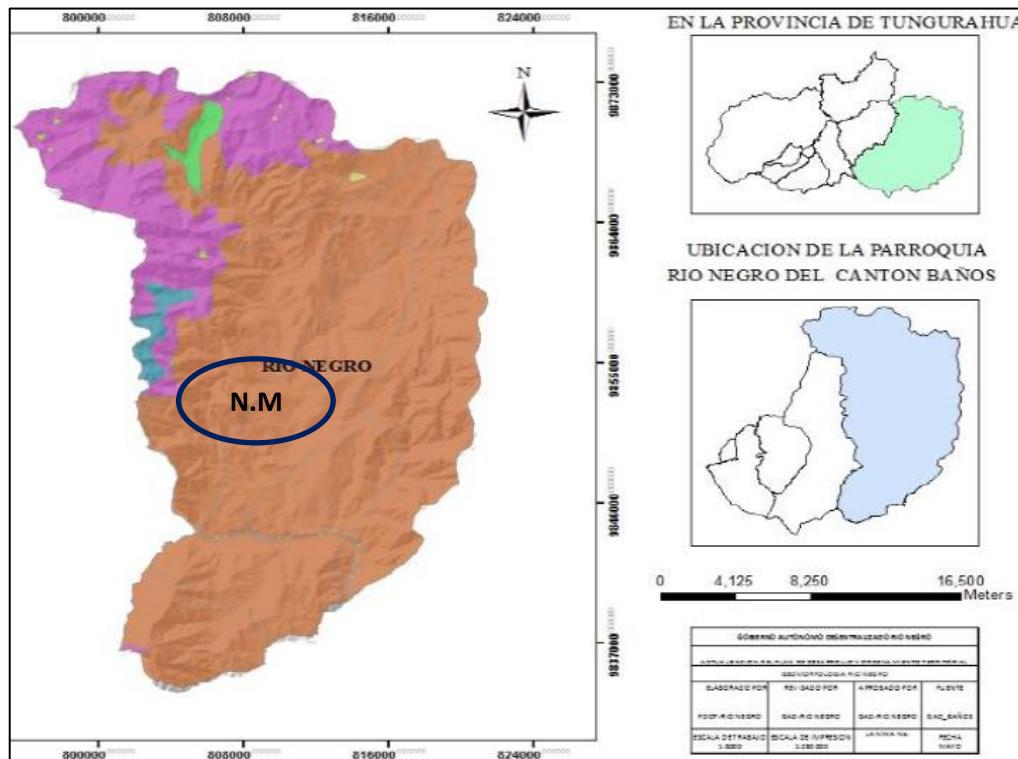


Figura 1. Mapa geopolítico; ubicación de la colonia Nicolás Martínez (N.M.) en la Parroquia Rio-Negro (GAD Baños de Agua Santa, 2011).

3.2.2. Manejo del experimento

Para llevar a cabo el experimento se realizó la metodología posteriormente descrita.

3.2.2.1. Fase 1: Sistemas de aclimatación para Post larvas (PL14) y Formación del Biofloc



3.2.2.1.1. Sistemas de aclimatación para Post larvas (PL14)

Se aclimató un total de 5 lotes cada uno con 5000 organismos. Las PL14 fueron obtenidas del laboratorio BIOGEMAR y transportadas vía terrestre en bolsas plásticas con un peso de 0.00025 g y salinidad de 3 ppt (3 lotes: aclimatación experimental y 1 lote: control negativo), y 0ppt (1 lote: control positivo). Posteriormente fueron aclimatadas en tanques de color oscuro de polipropileno con un volumen de 100 litros, aireación constante y alimentación ad libitum . La salinidad disminuyó en razón de 0.8 ppt diarios hasta llegar a 0 ppt según lo propuesto por Araneda, Pérez, y Gasca-leyva (2008) y Sanjoy, Kumar, Arunachalam, Koyadan, y Vijayan,(2019). El lote con salinidad 0ppt (control positivo) fue aclimatado bajo las mismas condiciones de los lotes experimentales; un lote de 3ppt considerado como control negativo se mantuvo con la misma salinidad de 3 ppt hasta el final del experimento, con sistema de flujo abierto y bajo las mismas condiciones de temperatura y aireación de los anteriores lotes.

3.2.2.1.2. Tanques de Aclimatación

Se emplearon cuatro tanques de polipropileno, color oscuro en forma de cono truncado invertido, con un volumen de 100 L. En los tanques se realizaron dos orificios inferiores cercanos a la base del tanque, uno en el lado derecho (tubería de drenaje $\frac{1}{2}$ ") a 0.05 m de la base y el otro en el lado izquierdo (tubería de cosecha 2") a 0.08 m de la base. Cada tubería estuvo compuesta por un adaptador para tanque, conector macho, tubería PVC (0.15 m de largo) y llave de PVC de 2 y $\frac{1}{2}$ (Vaca Nuñez, 2016) pulgada respectivamente. Para asegurar las uniones de las tuberías se empleó pegamento para PVC y teflón de uso comercial. Cada tanque estuvo cubierto en su superficie por el cobertor malla sombra.

3.2.2.1.3. Sistema de Aireación

El sistema de aireación se diseñó empleando 5 aireadores Air pomp de 300 lh de los cuales salieron mangueras de aireación de $\frac{1}{8}$ " , para los tanques de aclimatación. Cada ramificación estuvo conectada a una tubería de $\frac{1}{2}$ " (0.15m de largo x lado) de forma cuadrangular (uniones con codos PVC 1/2 ") con 4 perforaciones de $\frac{1}{16}$ " sobre la superficie del cuadrante. En las esquinas del cuadrado se usaron pesas de 500 g para mantenerlo en el fondo del tanque de cultivo. Los cuadrantes de aireación individualmente se colocaron en el centro de cada unidad experimental, según o propuesto por Lekang (2007).



3.2.2.2. Sistemas Biofloc

Se emplearon seis tanques de polipropileno, color oscuro en forma de cono truncado invertido, con una superficie de 0.0572 m², volumen de 35L aproximadamente. En los tanques se realizaron dos orificios inferiores cercanos a la base del tanque, uno en el lado derecho (tubería de drenaje ½ ") a 0,05 m de la base y el otro en el lado izquierdo (tubería de cosecha 2") a 0,08 m de la base. Cada tubería estuvo compuesta por un adaptador para tanque, conector macho, tubería PVC (0.15 m de largo) y llave de PVC de 2 y ½ (Vaca Nuñez, 2016) pulgada respectivamente. Para asegurar las uniones de las tuberías se empleó pegamento para PVC y teflón de uso comercial. Cada tanque estuvo cubierto en su superficie por el cobertor malla sombra.

3.2.2.2.1 Sistema de Aireación

El sistema de aireación se diseñó empleando 3 aireadores Air pomp de 300 lh de los cuales salió 2 mangueras de aireación de 1/8" , para los tanques de sistemas biofloc. Cada ramificación estuvo conectada a una tubería de ½ " (0.15m de largo x lado) de forma cuadrangular (uniones con codos PVC 1/2 ") con 4 perforaciones de 1/16" sobre la superficie del cuadrante. En las esquinas del cuadrado se usaron pesas de 500 g para mantenerlo en el fondo del tanque de cultivo. Los cuadrantes de aireación individualmente se colocaron en el centro de cada tanque (Lekang, 2007).

3.2.2.2.2. Formación del biofloc

Para dar inicio a la formación de los flóculos microbianos (25 ± 5 días), cada unidad experimental de los sistemas biofloc fue llenada con 35 L de agua dulce, subsiguiente se fertilizó el agua con fuentes de nitrógeno y fósforo (urea y superfosfato triple) a 3.0 mg /L de N. y 0.3 mg/L P(Maia y col., 2016); este método de fertilización se repitió cada tres días a las 08:00 h. Después de tres días de la primera fertilización química (N+P), se empezó la fertilización orgánica, relación Carbohidrato/Nitrógeno amoniacial (C/N), añadiendo para T1: seis g de carbohidrato por un gramo de nitrógeno amoniacial y para T2 : 15 g de carbohidrato por un gramo de nitrógeno amoniacial, a las 08:00 h (Krummenauer , 2017); simultáneamente muestras de agua en vasos de 100 ml se tomaron 2/semana para analizar las concentraciones de NAT. La formación del flóculo se ratificó mediante el volumen ml/L de este en los tubos Imhoff(Salmah, Ahmed, Atkinson, Desbois, y Little, 2018).



3.2.2.3. Fase 2: Bioensayo de cultivo *L. vannamei*

Esta fase no se llevó a cabo por la mortalidad temprana de las PL en el período de aclimatación.

3.2.2.4. Análisis y Monitoreo de la calidad de Agua

3.2.2.4.1. Parámetros fisicoquímicos.

Durante el experimento, los parámetros de temperatura, salinidad y pH fueron medidos diariamente, para esto se tomó una muestra de agua de cada lote en recipientes de poliestireno con capacidad de 100 mL, posteriormente se introdujo la sonda del equipo multiparámetros (Waterproof Tester 99720®) para obtener los resultados. La medición diaria de oxígeno disuelto se realizó introduciendo la sonda del oxímetro (oximeter Milwaukee ®) a la altura media del tanque de cultivo.

Además, se realizó el monitoreo de nitrógeno amoniacal total (NAT), alcalinidad y dureza de carbonato de calcio (CaCO_3) se realizó 2 veces por semana. Para el análisis de estos parámetros se tomaron muestras de agua en vasos de 100 mL, posteriormente se empleó el Test de medición química para agua (Aquatest Colombo Dorpsweg 11 NL-3257, API test water) siguiendo la metodología indicada por el proveedor(Colombo, 2011).

No. Lab.:		8088 Nombre: Agua de Vertiente									
NH4 ppm	NO ₃ %	P ppm	Zn ppm	Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	B ppm	Cl ppm	K ppm	Ca ppm	
0.36	2.04	0.01	0.01	0.01	0.19	0.01	0.01	6.57	5.85	11.2	
Mg ppm	Na ppm	C03 ppm	HCO3 ppm		C.E. mmhos/cm	pH	S ppm				
1.68	2.3	0.3	12.81		0.07	6.3	0.16				

Figura 2. Análisis químico de la calidad de agua. AGROLAB (2019).

3.2.2.4.2. Mantenimiento de la Alcalinidad del agua.



Durante el experimento se presentaron niveles por debajo de 7 para pH y 100 mg/L para CaCO₃, por lo tanto para mantener la calidad de agua se añadió carbonato de calcio según la metodología descrita por Arana Vinatea, (1997) , Loyless y Malone, (1997).

3.2.2.4.3. Monitoreo del flóculo Microbiano

El volumen de flóculo microbiano (ml/L) se medió con el empleo de los tubos Imhoff siguiendo la metodología indicada por Kumar (2018).

3.3. Diseño experimental y Análisis estadístico.

3.3.1. Fase 1: Sistemas de aclimatación para Post larvas (PL14) y Formación del Biofloc

Dentro del sistema de aclimatación para PL14 se empleó un diseño experimental aleatorizado con tres repeticiones a 3 ppt de salinidad, un control positivo a 0 ppt de salinidad y control negativo a 3 ppt de salinidad, con flujo abierto. Para la formación de los biofloc se empleó un diseño experimental aleatorizado con 2 tratamientos, T1 (seis g de carbohidrato por un gramo de nitrógeno amoniacial,) T2 (15 g de carbohidrato por un gramo de nitrógeno amoniacial,) cada uno con tres repeticiones. Los datos de calidad de agua del período de aclimatación y de la formación de los Biofloc, fueron analizados con la prueba de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de los datos, la cual se rechazó, por lo tanto, se aplicó el test no paramétrico para muestras pareadas de Wilcoxon.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.2. Fase 1: Aclimatación de Post Larvas (PL)

Lote 1: Las PL14 de 5000 organismos con salinidad 3 ppt, fue sometido a la metodología anteriormente descrita; en 48 horas de aclimatación se presentó mortalidad instantánea del 100% de los organismos a temperatura de 27.57 °C, pH 6.83, salinidad de 0 ppt, NAT 1.17 mg/L, alcalinidad 119.05 mg/L y oxígeno 6.10 mg/L.



Lote 2: Las PL14 de 5000 organismos con 3 ppt de salinidad fue sometido al período de aclimatación, los individuos presentaron mortalidad instantánea del 100% a los 9 días (216 horas), registrándose datos de temperatura de 21 °C, pH 7.03, salinidad de 0 ppt, NAT 1.5 mg/L, alcalinidad 107.14 mg/L y oxígeno 3.2 mg/L.

Lote 3: Las PL14 de 5000 organismos con 3 ppt de salinidad fue sometido al período de aclimatación, los individuos presentaron mortalidad instantánea del 100% a los 13 días (312 horas), registrándose datos de temperatura de 24.7 °C, pH 7.83, salinidad de 0 ppt, NAT 2mg/L, alcalinidad 107.14 mg/L y oxígeno 4.06 mg/L (**Tabla 1**).

Lote 4 (lote control positivo): Las PL14 de 5000 organismos con 0 ppt de salinidad fue sometido al período de aclimatación, se presentó el 100% de mortalidad instantánea a las 24 horas con temperatura de 24.7 °C, pH 6.22, salinidad de 0 ppt, NAT 1mg/L, alcalinidad 89.29 mg/L y oxígeno 6.2 mg/L.

Lote 5 (lote control negativo): Las PL14 de 5000 organismos con 3 ppt de salinidad fue mantenido con salinidad (3 ppt) constante, se presentó mortalidad del 1.14% de los individuos hasta el final del experimento. Temperatura 25.94 °C, pH 7.43, salinidad de 3.01 ppt, NAT 0.43 mg/L, alcalinidad 107.69 mg/L y oxígeno 5.35 mg/L.

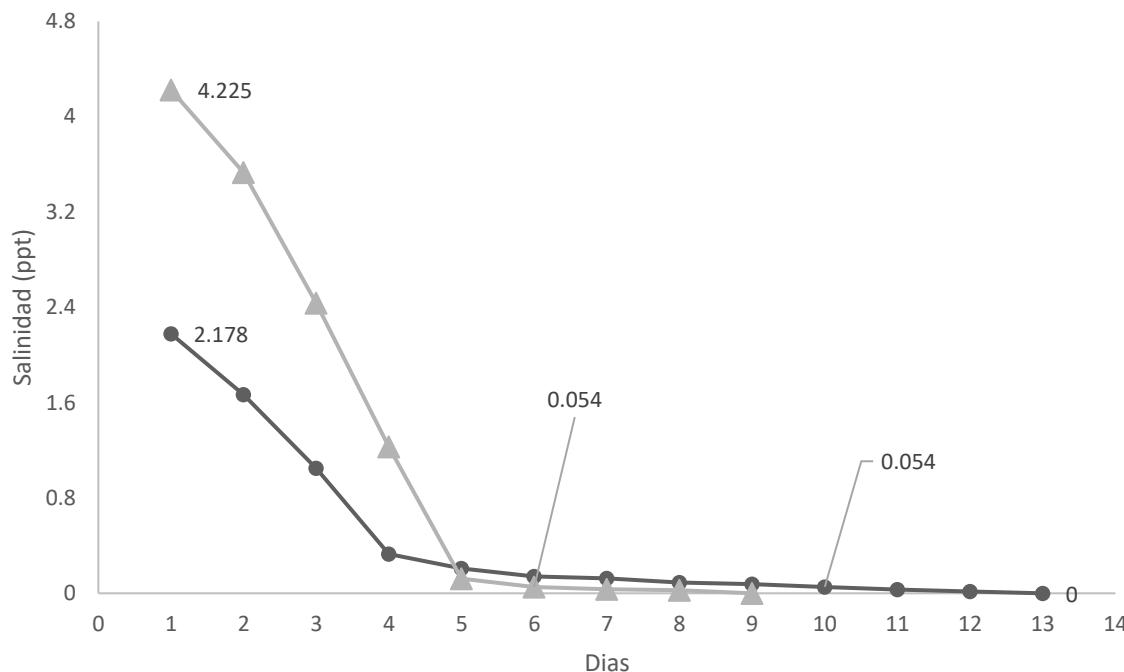
Tabla 1. Supervivencia de las PL en cada uno de los lotes.

Lotes	pH	Temp. (°C)	Salinidad (ppt)	NAT (NH ₃ + NH ₄) (mg/L)	Alcalinidad (mg/L)	Oxígeno mg/L	Mortalidad %	Supervivencia horas (h)
1	6.83	27.57	0.00	1.17	119.05	6.10	100	48
2	7.03	21.00	0.00	1.50	107.14	3.20	100	216
3	7.83	24.70	0.00	2.00	107.14	4.06	100	312
4*	6.22	24.7	0	1	89.29	6.2	100	24
5**	7.43	25.94	3.01	0.43	107.69	5.35	1.14	360

Wilcoxon Matched Pairs test. Marked tests are significant at p<.05000. Temp: p-value 0.173072. Salinidad: p-value 0.37426. NAT: p-value 0.001086, Alcalinidad: p-value 0.916512. Oxígeno: p-value 0.37426. pH: p-value 0.01515.

* Control positivo; **Control negativo: supervivencia determinada por sacrificio programado a la finalización del experimento.

Los lotes dos y tres presentaron salinidades por debajo de 0.05 ppt hasta los días 6 y 10 respectivamente, pese a la habituación de los organismos por 3 a partir de los días 6 y 10 días en medio considerado como dulce se manifiesta mortalidad instantánea del 100% (**Figura 3**).



Wilcoxon Matched Pairs test. Marked tests are significant at $p < 0.05000$

Figura 3. Salinidad de los organismos, L2 y L3

Este estudio demuestra estadísticamente que no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) sobre los parámetros de temperatura, salinidad, alcalinidad y oxígeno entre lotes 2 y 3, sin embargo, existió diferencia significativa sobre los parámetros de pH y en las concentraciones de NAT ($P < 0.05$) entre los lotes 2 y 3 de PL14; la metodología de aclimatación fue la misma empleada para todos los lotes. Pese a las fluctuaciones en las concentraciones de NAT, no se observa una influencia directa sobre la supervivencia de los organismos.

En el lote dos, los días 2 y 3, muestran las concentraciones más altas de NAT 1.6 y 1.8 mg/L respectivamente (**Figura 4**) y en el lote tres, los días 9 y 8 muestran concentraciones de 4 y 4.5 mg/L respectivamente (**Figura 5**).

LOTE 2

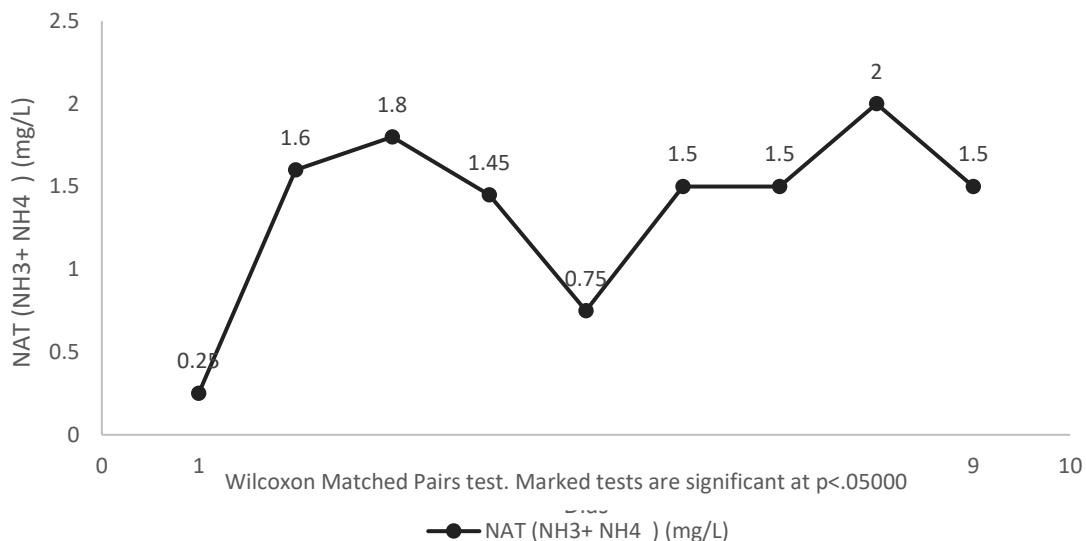


Figura 4. Variación en las concentraciones de NAT en L2

LOTE 3

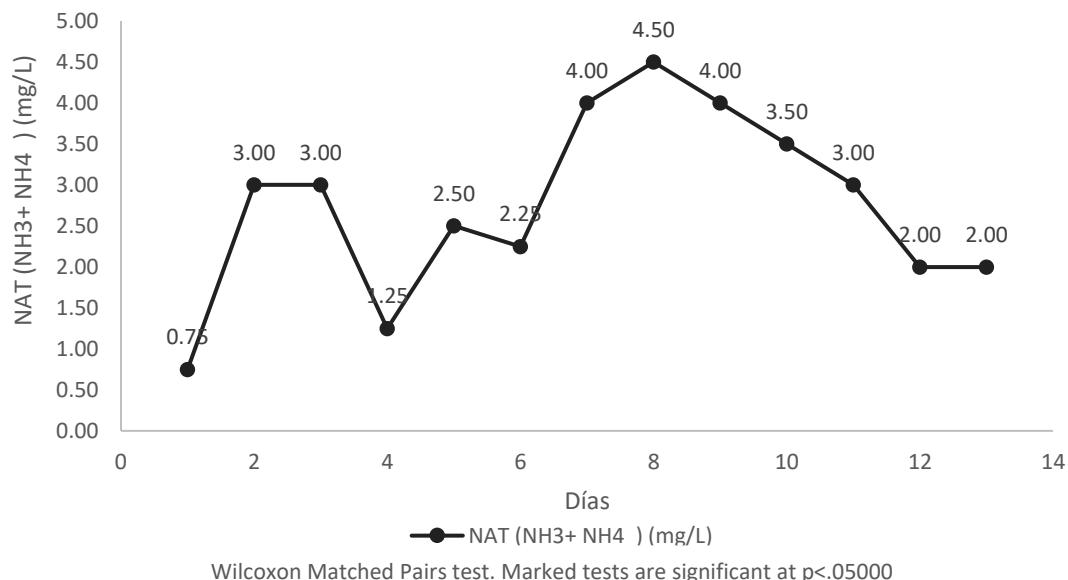


Figura 5. Variación en las concentraciones de NAT en L3.

Se observa en la **Figura 6** que no existe una influencia directa en la muerte instantánea de los organismos por las variaciones de pH y temperatura tanto en el lote 2 y lote 3.

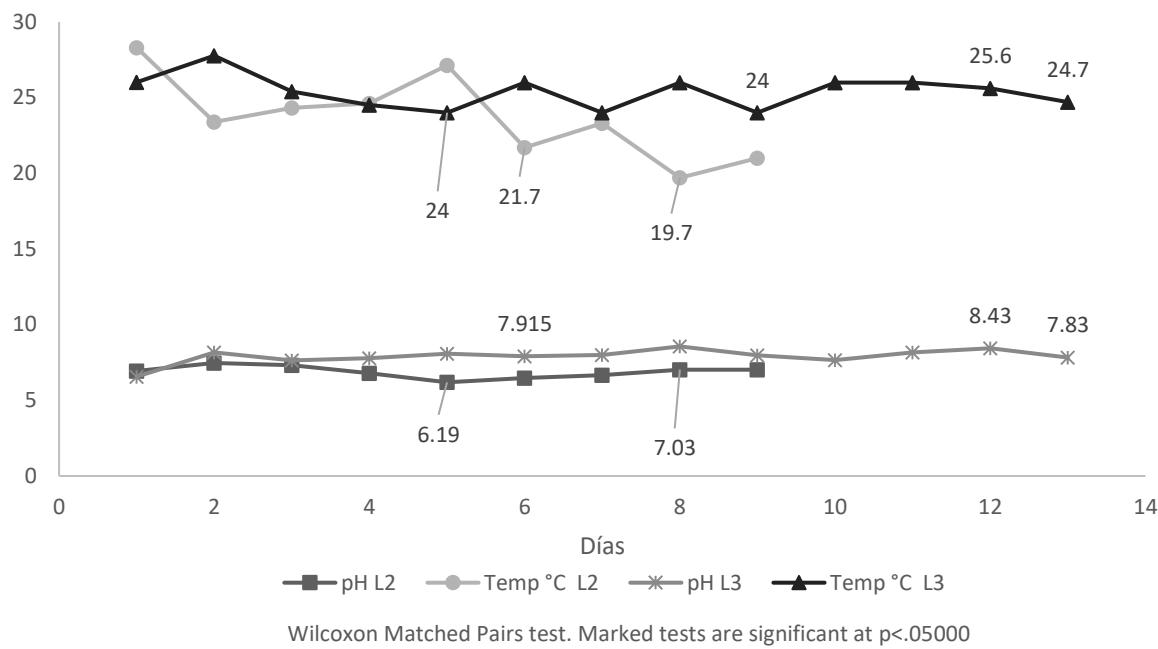


Figura 6. Variaciones de pH y temperatura en Lote 2 y Lote 3.

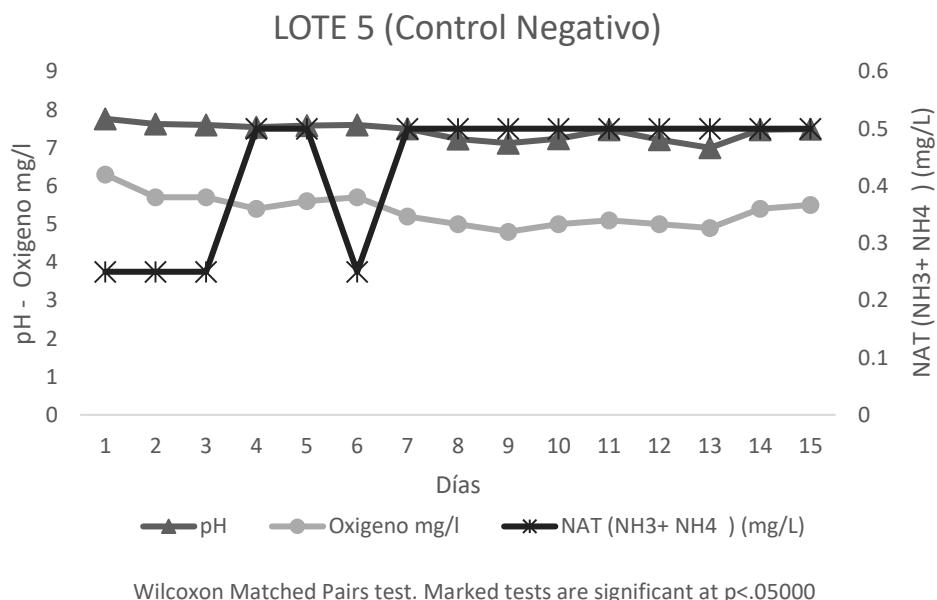


Figura 7. Variaciones de pH, Oxígeno, y NAT en el Lote 5.

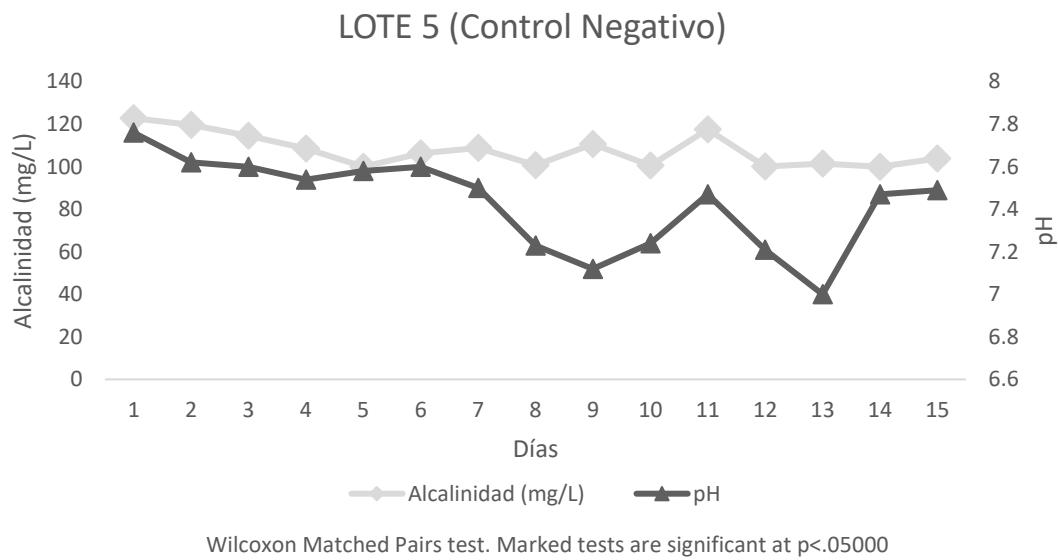


Figura 8. Relación de alcalinidad y pH, Lote 5.

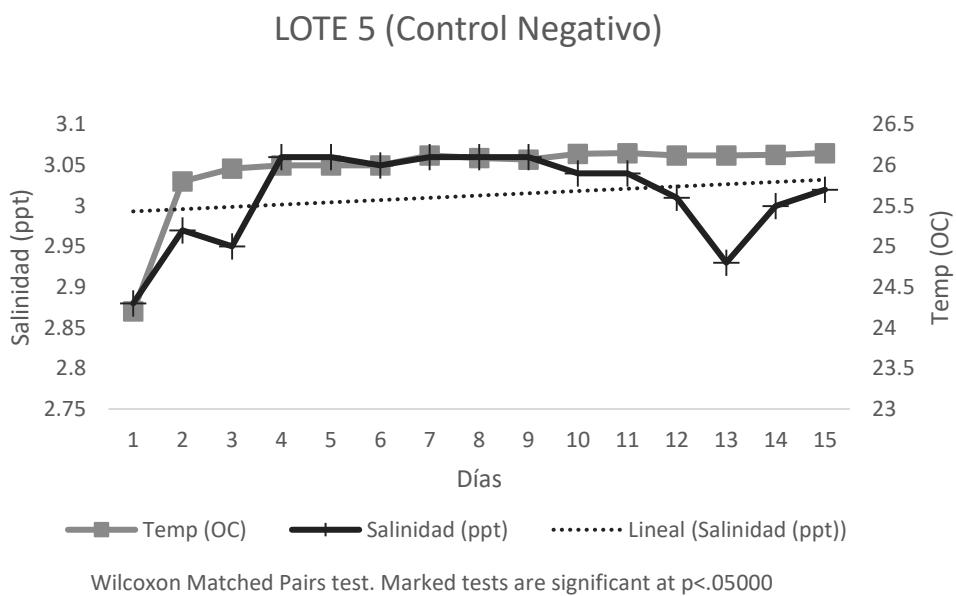


Figura 9. Salinidad y Temperatura en el Lote 5.

En el lote 5 (control negativo), las variantes de oxígeno, pH, temperatura y alcalinidad no presentan variaciones fuera de los parámetros de normalidad para *L. vannamei* (**Figura 7**; **Figura 8**; **Figura 9**). La salinidad se mantuvo constante en 3ppt, se observó mortalidad de 1.14% de organismos hasta el final del experimento.

4.1.1. Fase1: Formación del biofloc

La formación del biofloc (flóculo microbiano) en los Tratamientos 1 y 2, se muestra en la semana 4 con un volumen de sedimentación de 8 ml/L y 11.3ml/L respectivamente, continuando su crecimiento progresivo hasta su maduración en la semana 9, 10 para el tratamiento 1 y en la semana 8 para el tratamiento 2.

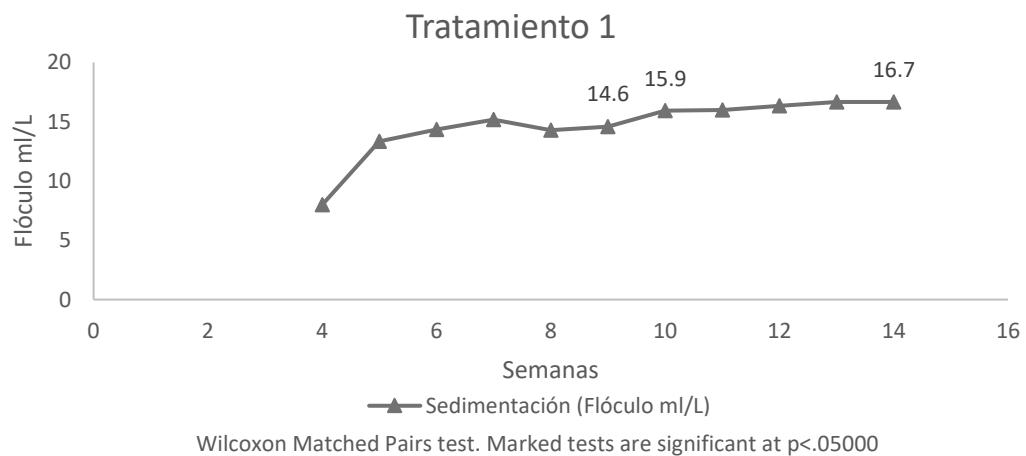


Figura 10.Tratamiento 1, Maduración del biofloc y su estabilización en crecimiento hacia la semana 14.

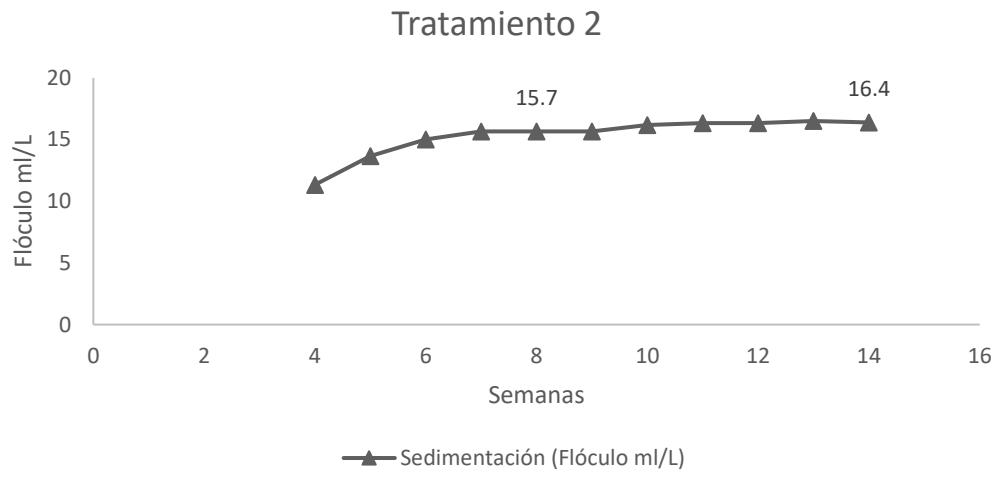


Figura 11.Tratamiento 2, Maduración del biofloc y su estabilización en crecimiento hacia la semana 14.

El crecimiento de los microorganismos se asume por el descenso en las concentraciones de NAT ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4$) a lo largo de las 14 semanas de experimento, en ambos tratamientos, a partir de la

semana 3 y 4 se observa la disminución de NAT 3-1.8 mg/L y 2.8-1.5 mg/L respectivamente, a la par que el volumen del flóculo crece (**Figura 12** y **Figura 13**); desde la semana 6 a la 14 se estabiliza las concentraciones de NAT por debajo de 0.5 mg/L.

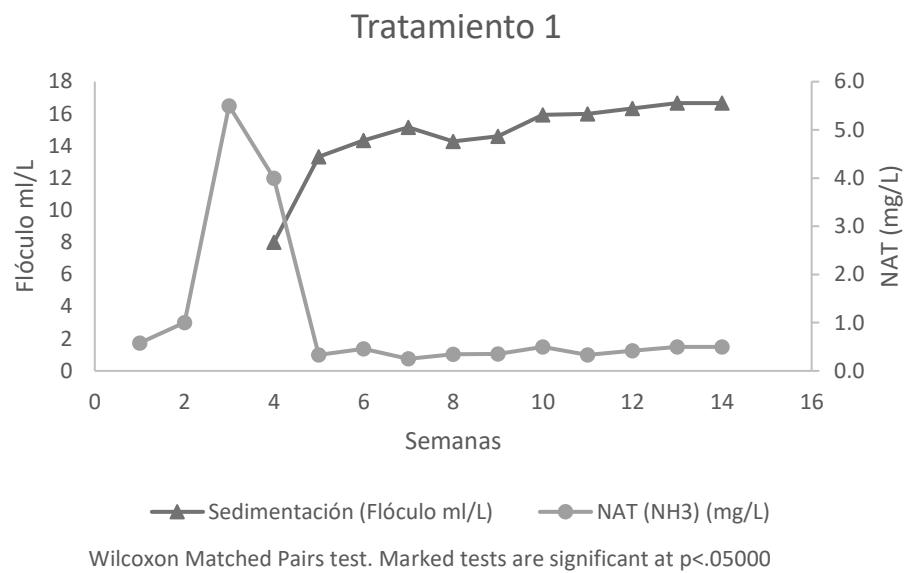


Figura 12. Tratamiento 1, disminución de los niveles NAT a medida que crece y se estabiliza el flóculo.

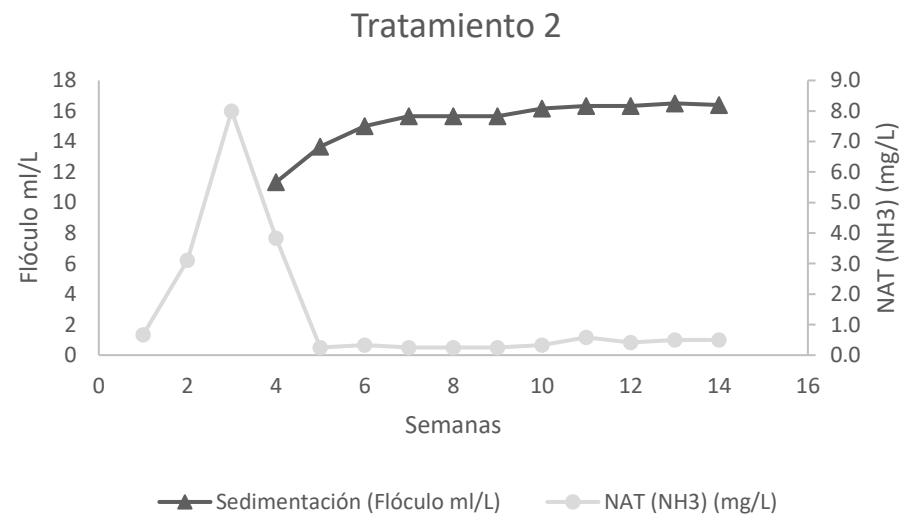


Figura 13. Tratamiento 2, disminución de los niveles NAT a medida que crece y se estabiliza el flóculo.

Durante el experimento en el T1 y T2 se observó descenso progresivo en las concentraciones de oxígeno, 1.8 mg/L y 1.5 mg/L, respectivamente, a partir de la semana 4 (**Figura 14** y **Figura 15**), lo que plantea, estar relacionado con el establecimiento de comunidades bacterianas del biofloc.

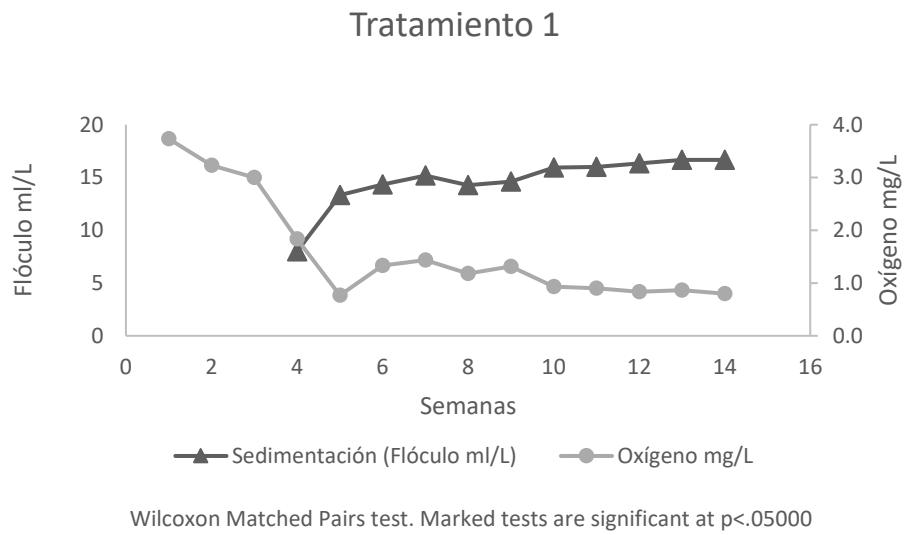


Figura 14. Tratamiento 1, disminución en los niveles de oxígeno a medida que crece el flóculo bacteriano.

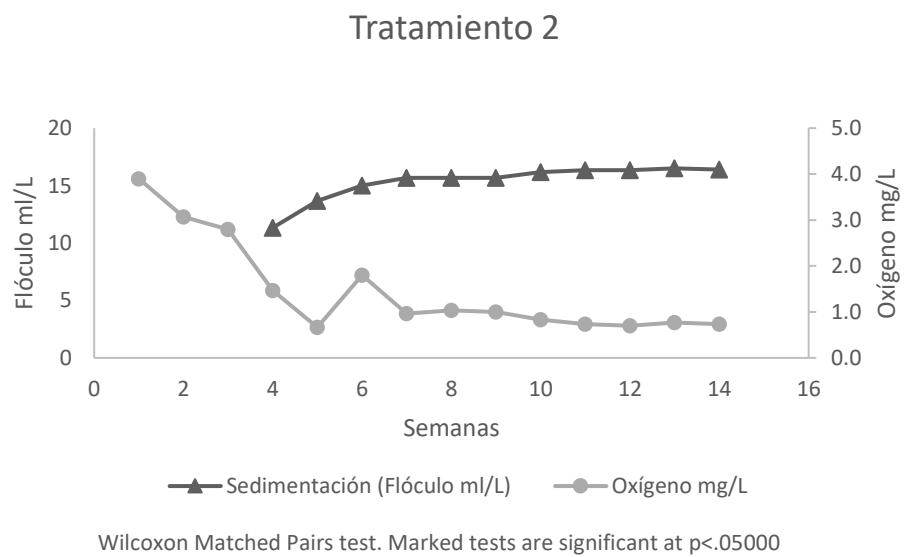


Figura 15. Tratamiento 2, disminución en los niveles de oxígeno a medida que crece el flóculo microbiano.

En la **Figura 16** y **Figura 17**, se observa que, pese a las fluctuaciones de temperatura registradas durante el experimento, no se ve afectado el volumen del flóculo manteniéndose constante y con tendencia de crecimiento.

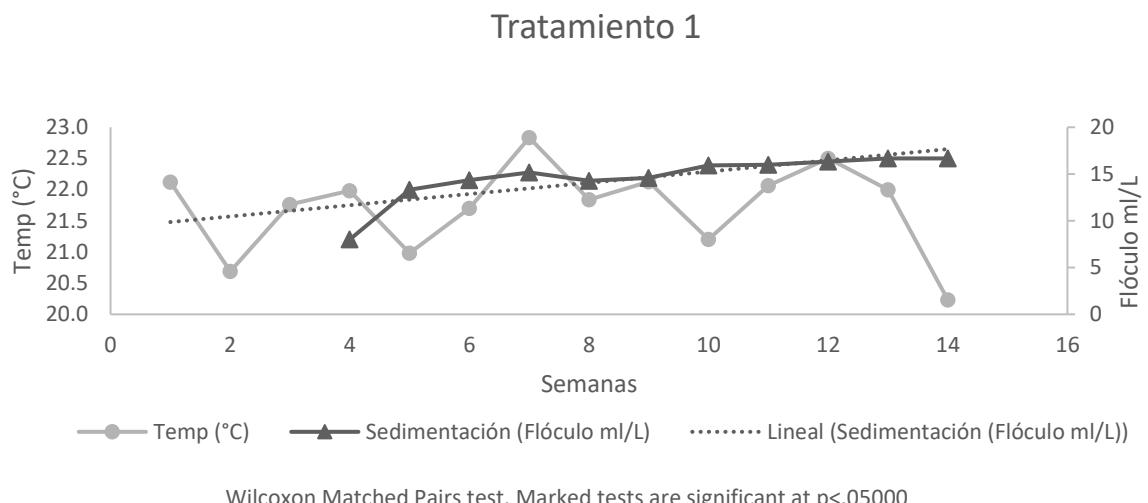


Figura 16. Tratamiento 1, Fluctuaciones de temperatura sobre el crecimiento del floculo bacteriano.

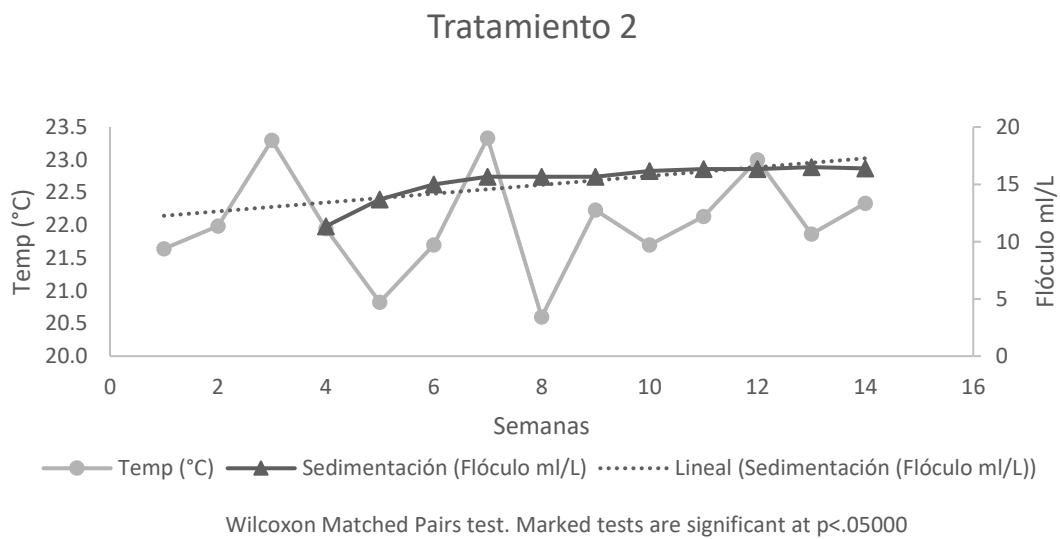


Figura 17. Tratamiento 2, Fluctuaciones de temperatura sobre el crecimiento del floculo bacteriano.

La concentración de salinidad y TDS aumentaron durante las 14 semanas de experimento para ambos tratamientos, T1: Salinidad 270 mg/L, TDS 379.7 mg/L y T2: Salinidad 325.3 mg/L, TDS 409 mg/L, a la par del crecimiento del biofloc (Figura 18 y Figura 19).

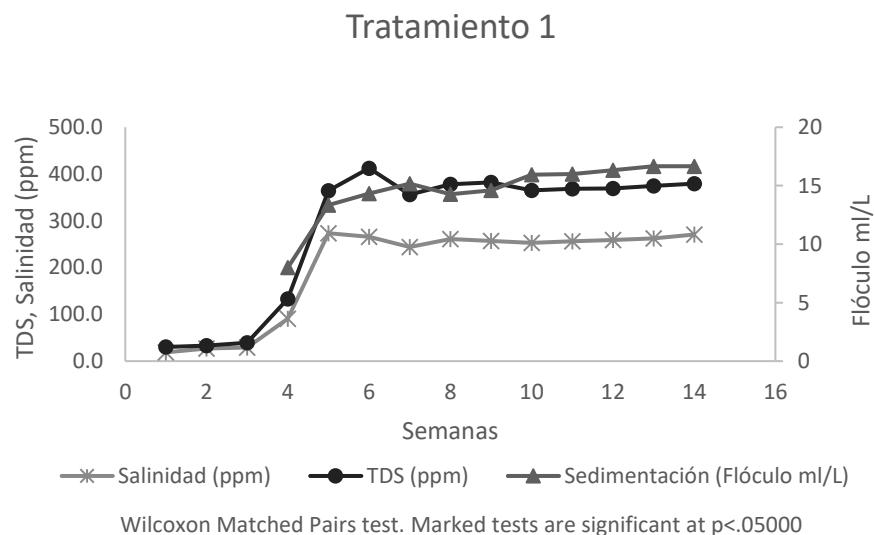


Figura 18. Tratamiento 1, Crecimiento en las concentraciones de Salinidad TDS y flóculo.

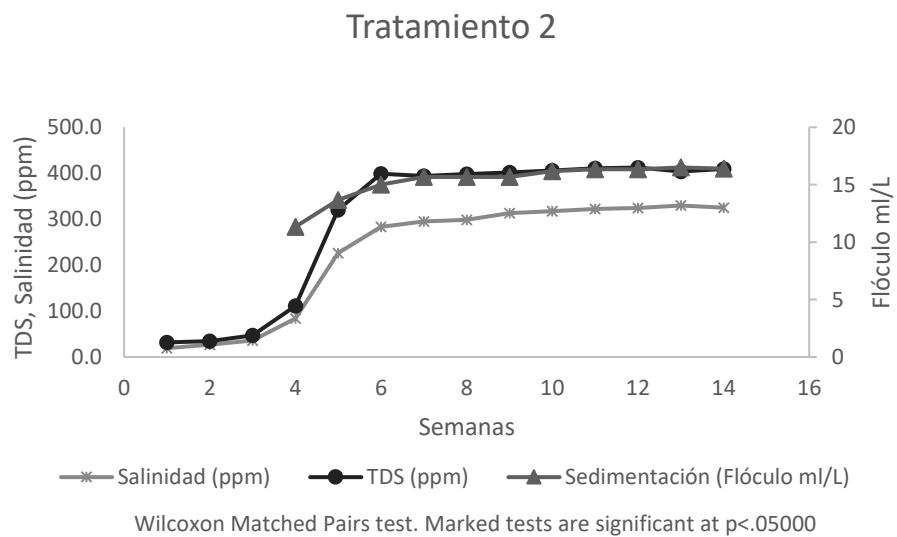


Figura 19. Tratamiento 2, Crecimiento en las concentraciones de Salinidad TDS y flóculo.

El pH y la alcalinidad se mantuvieron en rangos por encima de 7(pH) y 100 mg/L(alcalinidad) respectivamente para ambos tratamientos (**Figura 20** y **Figura 21**); no se observó un descenso en el volumen del biofloc por fluctuaciones de pH y alcalinidad.

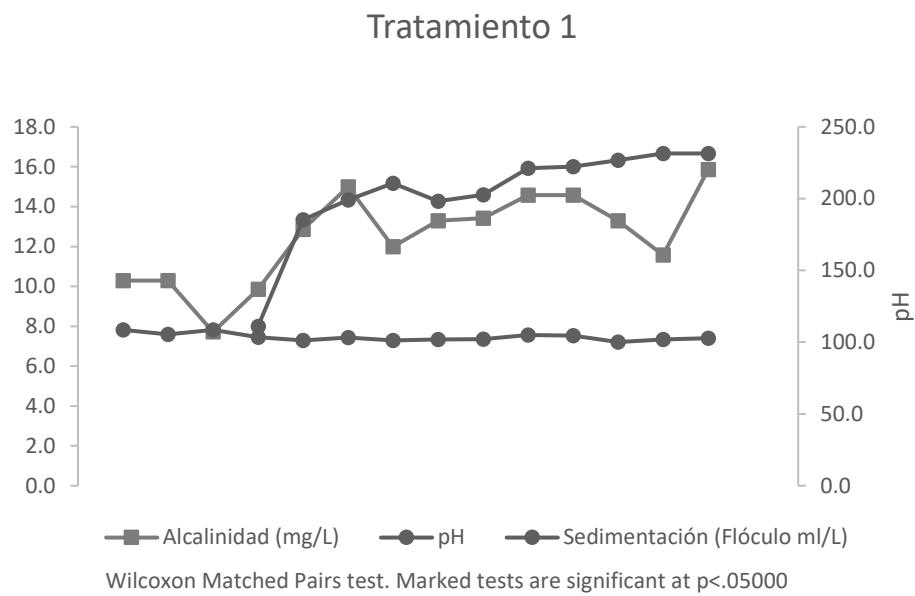


Figura 20. Tratamiento 1, Variaciones de pH y alcalinidad sobre el floculo.

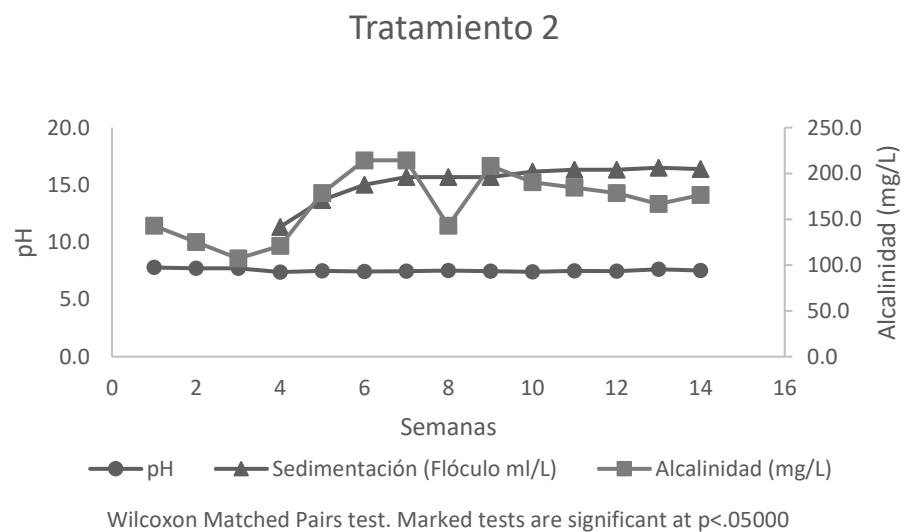


Figura 21. Tratamiento 2, Variaciones de pH y alcalinidad sobre el floculo.



La metodología antes descrita fue la misma aplicada para ambos tratamientos, sin embargo, se encontró diferencias significativas ($P < 0.05$) en las concentraciones de salinidad y sedimentación entre tratamientos. En la semana 4 el tratamiento 2, muestra un crecimiento de 11.3 mg/L, por otro el tratamiento 1 muestra un crecimiento de 8 mg/L, no obstante en la semana 10 en ambos tratamientos se observa la estabilización del flóculo con un crecimiento paulatino de 16 mg/L hasta 16.7 mg/L (T1) y 16.4 mg/L (T2) en la semana 14, la salinidad en ambos tratamientos muestra un aumento, registrándose mayores concentraciones en el T2 de 325 mg/L en la semana 14, mientras el T1 270 mg/L (**Tabla 2**). No existió diferencias significativas ($P > 0.05$) en las concentraciones de NAT, Oxígeno, pH, alcalinidad, Temperatura y TDS.

Tabla 2. Diferencia entre concentraciones de salinidad y floculo de los tratamientos 1 y 2 durante la semana 4, 10 y 14.

Semanas	T1		T2	
	Sedimentación (Flóculo ml/L)	Salinidad (ppm)	Sedimentación (Flóculo ml/L)	Salinidad(ppm)
4	8.0	29.0	11.3	83.7
10	15.9	252.7	16.2	317.7
14	16.7	270.3	16.4	325.3

Wilcoxon Matched Pairs test. Marked tests are significant at $p < .05000$. Sedimentación: p-value 0.016605. Salinidad: p-value 0.009182

4.1.3. Fase 2: Bioensayo de cultivo *L. vannamei*

No es viable debido a la muerte de las PL en el periodo de aclimatación. En esta investigación, los organismos no sobreviven a salinidades por debajo de los 0 ppt por más de tres días. Los biofloc están formados en medio dulce, por lo tanto, es poco probable que las PL vivan y tengan un fin viable productivo bajo los parámetros de calidad de agua usada en este experimento.



4.2. Discusión

4.2.2. Fase 1: Aclimatación de Post Larvas (PL)

Allan y Maguire (1992); Mcgraw (2002); Gao y col. (2016); Leal y col. (2019) reportan en sus investigaciones que los organismos sometidos a periodos de aclimatación, donde la salinidad tope sea de 2 ppt y 3 ppt poseen una supervivencia por encima del 80% lo cual concuerda con lo expuesto en los resultados obtenidos del lote 5 (control negativo), donde se observó mortalidad del 1.14% durante el experimento; por otra parte, Crawford (1999) menciona que el período mínimo de aclimatación de organismos salados a medio dulce es de 48 h con un 50% de supervivencia, aunque en este estudio el lote 1 sometido a 48 h de aclimatación tuvo 100% de mortalidad alcanzando 0 ppt a las 48 h. Los lotes 2 y 3 sobrepasaron los 6 y 10 días de aclimatación respectivamente, con dos días de habituación como mínimo a 0 ppt lo que concuerda con lo expuesto por Mcgraw y Scarpa (2004) sin embargo, después de este período se presenta mortalidad del 100% en ambos lotes. Según Araneda (2008), la aclimatación de post-larvas *L. vannamei* por debajo de salinidades de 0.5 ppt ponen al organismo al límite de su capacidad de osmoregulación, comprometiendo la supervivencia de las PL, sin embargo, en este estudio se demostró que en los lotes 2 y 3, los organismos sobrevivieron a salinidades de 0 ppt durante dos días, presentándose mortalidad del 100% al tercer día.

Mcgraw y Scarpa (2016) mencionan en su estudio que *L. vannamei* puede sobrevivir a salinidades por debajo de 0.2 ppt, no obstante Araneda (2008) indica en su investigación que las PL mayores a 14 días de edad, aclimatadas durante 10 días con un descenso de salinidad de 4 ppt diarios sobreviven a salinidad 0 ppt durante 30 semanas en su respectivo cultivo; esto coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio ya que las PL 14 de los lote 2 y 3 sobrevivieron durante 2 días bajo salinidad 0 ppt, lo que sugiere que *L. vannamei* si es capaz de subsistir en agua dulce (0 ppt), sin embargo Araneda (2008) revela que el tiempo de supervivencia estaría estrechamente relacionado con la importancia del balance iónico presente en la calidad del agua del cultivo. Mientras que Roy, Davis, Saoud, y Henry (2007) concluyen en su estudio que los valores óptimos de iones para el cultivo y crecimiento de PL *L. vannamei* en salinidades menores a 4 ppt deben ser: SO_4 (262.3 mg/L), K^+ (40 mg/L), Na^+ (1,114 mg/L) y Mg^{2+} (40 mg/L), y el ratio entre los iones $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ de 29:1 respectivamente; de la misma manera Mcgraw y Scarpa (2004) señalan en su investigación que a ratios de $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ mayores a 20.4: 1 respectivamente es viable



la supervivencia y crecimiento de post larvas en agua dulce (0 ppt). Perez, Davis, Roy, y González (2012) señalan en su estudio que a concentraciones predominantes de Na^+ sobre K^+ la supervivencia de los organismos es mayor al 50%.

Crawford (1999) sugieren iones como Cl^- , deben poseer una concentración mínima de 300 mg/L en calidad de agua. Estas investigaciones difieren con los parámetros de calidad de agua usados en este estudio donde, las concentraciones de los iones fueron de S^{2-} (0.16 mg/L), K^+ (5.85 mg/L), Na^+ (2.3 mg/L) y Mg^{2+} (1.68 mg/L), Cl^- (6.57 mg/L) y el ratio entre los iones $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ de 2:5 es decir las concentraciones de potasio fueron notablemente mayores en relación al sodio; por otra parte no se ha encontrado estudios que indiquen el efecto del ratio $\text{Na}^+ : \text{K}^+$, donde los valores de K^+ sean mayores a los de Na^+ , además la influencia sobre los parámetros de supervivencia y crecimiento de los organismos.

En esta investigación la presencia de concentraciones mayores de K^+ sobre Na^+ sugieren un desbalance iónico que afecta la supervivencia de los camarones por la variación entre las concentraciones de soluto a nivel de la hemolinfa (medio interno) y el agua de cultivo (medio externo). La hemolinfa del camarón está constituida en un 88% por Na^+ y Cl^- , por lo tanto Hurtado Oliva (2004) menciona que el organismo al enfrentarse a un medio hipotónico (medio externo), por gradiente de concentración, inicia un eflujo de Na^+ con la finalidad de osmoregularse (incremento de la actividad en la bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa), lo que evita la tumefacción de tejidos, sin embargo al realizar este proceso la hemolinfa pierde su osmolalidad (concentración mínima de soluto Na^+ 700 mmol/Kg)(Leal y col., 2019) y al estar en un medio dulce con flujo abierto (renovación de agua constante), no existe un influjo retornable de Na^+ hacia la hemolinfa, occasionando un shock iónico que interfiere en el intercambio gaseoso, perdiendo la capacidad de osmoregulación y posterior muerte.

El balance iónico entre el ratio de $\text{S}^{2-} : \text{Mg}^{2+}$ según Mcgraw y Scarpa (2016) está relacionado con el crecimiento y ciclo de muda del organismo, el autor señala que en ratios mayores de $\text{S}^- : \text{Mg}^+$, 3:1 existe crecimiento uniforme de los individuos. No obstante, en la presente investigación se observó crecimiento disparejo entre los organismos de un mismo lote, lo cual se estipula es consecuencia de la calidad de agua empleada en este experimento, donde el ratio de $\text{S}^{2-} : \text{Mg}^{2+}$ es de 1:2.

Las variaciones en las concentraciones de NAT obtenidas en el estudio se relacionan con el aumento en la excreción de heces , debido a que existe un incremento en actividad de la bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa a bajas salinidades, lo que demanda mayor gasto energético para el proceso de osmoregulación, por lo tanto, el camarón ingiere mayor cantidad de alimento, esto concuerda



con lo expuesto por Thi, Huong, Jayasankar, y Wilder (2010) , Mcgraw y Scarpa (2004). La concentración de NH_3 obtenidas en el presente estudio se encuentra dentro de los parámetros conocidos como normales (0.2 mg/L) Willingham (1976), de esta manera se descarta que la mortalidad de las PL haya sido afectada por niveles tóxicos de amoníaco. Se sugiere que las variaciones de pH obtenidas en este estudio podrían estar influenciadas por el recambio constante de agua (sistema de flujo abierto), que se efectuó para mantener la calidad de cultivo disminuyendo las concentraciones de NAT, no obstante los niveles de pH se mantuvieron por encima de 6.5(Allan y Maguire, 1992), niveles óptimos para el desarrollo de *L.vannamei*.

4.2.1. Fase 1: Formación del biofloc

Emerenciano (2012), menciona en su estudio que el crecimiento del floculo microbiano usando diferentes fuentes de carbohidrato puede desarrollarse de 25 días a 30 días, lo cual concuerda con los resultados de este estudio donde el crecimiento del floculo fue notable a partir del día 28(semana 4) (Fig.2) (Fig3.). La maduración del biofloc acorde con Salmah (2018) puede ir de 10 ml/L a 15 ml/L sin embargo, Avnimelech (2014) menciona que en cultivos de camarones puede ir de 1 ml/L a 40ml/L, estos parámetros concuerdan con los encontrados en este estudio (Fig.2) (Fig3.). En los tratamientos 1 y 2 se observa en la semana 10 que la curva de crecimiento de los microrganismos alcanza una meseta, también conocida como curva estacionaria, con un crecimiento paulatino hacia la semana 16; se sugiere que la curva estacionaria inició cuando hubo saturación de CO_2 y sustancias tóxicas del metabolismo, debido a la cantidad de organismos aerobios, esta explicación coincide con lo reportado por Apella (2016) .

Según Ballester y Cupertino (2017), se presentan picos de NAT de hasta 8.34 mg/L por la inestabilidad de la comunidad microbiana y su capacidad de inhibir las concentraciones de amonio durante las primeras semanas de su desarrollo, esto concuerda con lo expuesto en esta investigación donde se registraron picos de 8 mg/L NAT hasta la semana 3, Schveitzer (2013), también mencionó en su estudio que los niveles altos de NAT pueden permanecer por 3 semanas (Fig.4) (Fig.5). A medida que el floculo bacteriano creció, se observa el descenso drástico en las concentraciones de NAT, manteniendo los niveles por debajo de 1mg/L (Fig.4) (Fig.5) en los tratamientos 1 y 2, coincidiendo con lo reportado por Emerenciano (2013) . En la Fig.6 y Fig. 7 se observó el descenso en las concentraciones de oxígeno disuelto a medida que el floculo microbiano crecía; esto se debe al desarrollo de microorganismos aerobios, bacterias heterotróficas (Ray, Lewis, Browdy, Lef , 2010), encargadas de controlar los niveles de NAT.



Existieron fluctuaciones de temperatura a lo largo de las 14 semanas de experimento, sin embargo, no se observó influencia sobre el volumen de sedimentación (flóculo), White, Kalf, Rasmussen, y Gasol (1991) reportó que bacterias heterotróficas pueden crecer a temperaturas de 15 °C hasta 40 °C; en el presente experimento la temperaturas de los biofloc no descendió de 19 °C.

El incremento de salinidad y TDS fue a la par con el crecimiento del flóculo, esto se explica por la adición del carbohidrato y de carbonato de calcio durante el experimento. El carbohidrato permitió el crecimiento de los microorganismos, lo mismo que se ve reflejado en el incremento del volumen de sedimentación, el aumento en la salinidad se debe a la adición de carbonato de calcio, más las sales de calcio, potasio y sodio que posee la harina de arrocillo. La alcalinidad y pH se mantuvieron por encima de 100 mg/L y 7 respectivamente, los mismos parámetros fueron registrados por Ray (2010).

4.2.3. Fase 2: Bioensayo de cultivo *L. vannamei*

Mcgraw(2002) evaluó la supervivencia de las PL 10, PL 15 y PL 20, una vez alcanzada salinidad 0ppt, el porcentaje de supervivencia fue de 0% y 50% a las 24h, por otro parte, a las 48% el porcentaje de supervivencia fue de 0%, concluyendo que *L.vannamei* no sobrevive a salinidades por debajo de 0.5 ppt, lo cual concuerda con los periodos de supervivencia presentados en este estudio. El mismo autor en su estudio no menciona en su experimento, si existió analices de los iones en la calidad de agua usada para la aclimatación de las PL. Araneda (2008) reportó en su investigación que el cultivo de *L.vannamei* en 0 ppt de salinidad es viable, obteniendo el 60% de supervivencia, al finalizar el cultivo de 210 días (30 semanas) , sin embargo esto contrasta con los resultados obtenidos en el presente estudio donde se alcanzó 0 ppt , pero existió mortalidad del 100% en todos los lotes una vez alcanzada está salinidad, lo que sugiere que la calidad de agua empleada en el experimento de Araneda (2008) tuvo influencia determinante en la supervivencia de los organismos, ya que el balance iónico entre el ratio $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ fue de 20.4: 1, mientras que en el presente experimento fue de 2:5 respectivamente; como se mencionó en la sección anterior este desbalance iónico causa eflujo del ion Na^+ desde la hemolinfa hacia el medio exterior (agua de cultivo), provocando que las PL pierdan la capacidad de osmoregulación al no poseer suficiente Na^+ para generar el intercambio iónico con el medio exterior.



La calidad de agua usada en el tanque de aclimatación fue la misma que se empleó para el crecimiento de los flóculos bacterianos, por lo tanto, es poco probable que los organismos PL 14 *L.vannamei* sobrevivieran y tuvieran un desarrollo viable sobre los parámetros productivos (factor de conversión alimenticia, ganancia de peso, supervivencia, tasa de crecimiento específica), por estas razones no se pudo cumplir con los objetivos específicos planteados en la fase dos del experimento , planteado en este estudio.



5. CONCLUSIONES

Se concluye que la post larva no es capaz de sobrevivir a salinidades por debajo de 0.05 ppt por más de tres días debido al desbalance iónico del ratio $\text{Na}^+ : \text{K}^+$, lo que dificulta su proceso de osmoregulación a través de la hemolinfa, causando un shock por déficit de sodio y cloro. El 88% de la hemolinfa está constituida por iones de Na^+ y Cl^- . La calidad de agua en cuanto a balance iónico es fundamental para la supervivencia de las larvas, este estudio establece que un desbalance en el ratio de $\text{Na}^+ : \text{K}^+$, 2:5, es insuficiente para la supervivencia de los organismos. Por lo tanto el cultivo dulceacuícola de *L. vannamei* bajo las condiciones de calidad de agua usadas en este experimento no es viable con fines productivos.

La presente investigación concluye que el desarrollo de flóculos microbianos en agua dulce es factible, sin embargo, el crecimiento y desarrollo productivo del camarón *L. vannamei* en biofloc dulce no es viable, debido a la calidad de agua usada en cuanto al balance iónico del ratio $\text{Na}^+ : \text{K}^+$, 2:5, sin embargo, estos bioflocs pueden evaluarse en otras especies acuáticas de medio dulce.



6. RECOMENDACIONES.

- Es necesario realizar análisis fisicoquímicos y microbiológicos del agua para que nos permitan conocer la cantidad, numero de iones disponibles y microorganismos, de esta manera se puede determinar si la calidad del agua es la adecuada para el cultivo de *L. vannamei*.
- Se recomienda la implementación de sistemas de recirculación, más el uso de membranas para osmosis inversa, permitiría mantener la calidad de agua durante el período de aclimatación, teniendo un favorable impacto sobre el corregimiento del balance iónico entre el ratio $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ y las concentraciones de NAT, lo que mejoraría el peso y porcentaje de supervivencia en post-larvas.



7. BIBLIOGRAFÍA

- Allan, G. L., & Maguire, G. B. (1992). Effects of pH and salinity on survival , growth and osmoregulation in *Penaeus wzonodon* Fabricius, 107, 33–47.
- Apella, M. (2016). *Microbiología de agua. Conceptos básicos*. Tucumán: 1 Centro de Referencia para Lactobacilos y Universidad Nacional de Tucumán.
- Arana Vinatea, L. (1997). Corrección de pH en tanques de cultivo. In *Princípios Químicos da Qualidade da Água em Aquicultura* (p. 62). Florianópolis.
- Araneda, M., Pérez, E. P., & Gasca-leyva, E. (2008). White shrimp *Penaeus vannamei* culture in freshwater at three densities : Condition state based on length and weight, 283, 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.030>
- Avnimelech, Y. (2014). *Biofloc technology*. Haifa.
- Ballester, L., & Cupertino, M. (2017). Productive performance of juvenile freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* in biofloc system. *Aquaculture Research*, 1–8. <https://doi.org/10.1111/are.13296>
- Cardona, E., Gueguen, Y., Magré, K., Lorgeoux, B., Piquemal, D., Pierrat, F., ... Saulnier, D. (2016). Bacterial community characterization of water and intestine of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system. *BMC Microbiology*, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0770-z>
- Colombo. (2011). Aquatest Manual. Ooltgesplant.
- Crawford, B. O. B., Wyk, P. Van, Davis-hodgkins, M., Laramore, R., Main, K. L., Mountain, J., ... Mountain, J. (1999). Farming Marine Shrimp, (4520).
- Darwin, B., Carreño, V., & Ortega, G. (2015, September). 500 Mayores Empresas del Ecuador. *Vistazo*, 204–206.
- Ekasari. (2014). Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources.
- Emerenciano, M. (2011). Consideraciones importantes en sistemas de Biofloc para camarón.
- Emerenciano, M., Ballester, E. L. C., Cavalli, R. O., & Wasielesky, W. (2012). Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp



Farfantepenaeus brasiliensis (Latreille , 1817), 447–457. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02848.x>

Emerenciano, M., Gaxiola, G., & Cuzon, G. (2013). Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry, (i).

Emerenciano M, Cuzon, G., Goguenheim, J., & Gaxiola, G. (2011). Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquac Res*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03012.x>

FAO(Food and Agriculture Organization of the United Nation). (2017). *Producción pesquera y acuícola en América Latina y el Caribe*.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation). (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*.

Freire, C. A., Cavassin, F., Rodrigues, E. N., Torres, A. H., & Mcnamara, J. C. (2003). Adaptive patterns of osmotic and ionic regulation , and the invasion of fresh water by the palaemonid shrimps, 136, 771–778. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2003.08.007>

Gao, W., Tian, L., Huang, T., Yao, M., Hu, W., & D, Q. X. P. (2016). Effect of salinity on the growth performance , osmolarity and metabolism-related gene expression in white shrimp *Litopenaeus*. *Aquaculture Reports*, 4, 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.09.001>

Hopkins, J., Browdy, C., & Sandifer, P. (1991). The relationship between feeding rate,paddlewheel aeration rate and expected dawn dissolved oxygen in intensive shrimp ponds. *Aquacultural Engineering*, 10, 281–290.

Hurtado Oliva, M. Á. (2004). *Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en los mecanismos de osmorregulación del camarón blanco *LitoPenaeus vannamei* (Boone) expuestos a estrés hipo e hipersalino a corto y largo plazo*. Centro de investigaciones biológicas del noreste.

Krummenauer, D., Peixoto, S., Federal, U., Pernambuco, R. De, & Cavalli, R. (2017). Superintensive Culture of White Shrimp , *Litopenaeus vannamei* , in a Biofloc Technology System in Southern Brazil at Different Stocking Densities, (October 2011). <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00507.x>

Kumar, V. S., Pandey, P. K., Anand, T., Bhuvaneswari, G. R., Dhinakaran, A., & Kumar, S. (2018). Bio fl oc improves water , ef fl uent quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. *Journal of Environmental Management*, 215, 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.015>



Kumlu, M., & Jones, D. A. (1995). Salinity tolerance of hatchery-reared postlarvae of *Penaeus indicus* H. Milne Edwards originating from India, 130(94), 287–296.

Leal, H. M. E., Palafox, J. T. P., Cervantes, C. M., Wenceslao, C., Quiñónez, V., Luna, A., ... Gómez, R. L. (2019). Effects of low salinity exposure on immunological , physiological and growth performance in *Litopenaeus vannamei*, (May 2018), 1–7. <https://doi.org/10.1111/are.13969>

Lekang, O. (2007). *Aquaculture Engineering* (Primera). Blackwell.

Leon, C. (2015). Sistemas de Biofloc.

Loyless, C., & Malone, R. (1997). A sodium bicarbonate dosing methodology for pH management. *The Progressive Fish Culturist*, 8.

Maia, E. D. P., Modesto, G. A., Brito, L. O., Galvez, A. O., Cristina, T., & Gesteira, V. (2016). Intensive culture system of *Litopenaeus vannamei* in commercial ponds with zero water exchange and addition of molasses and probiotics, 51(Abcc 2013), 61–67.

Mcgraw, W. J. (2002). Acclimation of *Litopenaeus vannamei* Postlarvae to Low Salinity : Influence of Age , Salinity Endpoint , and Rate of Salinity Reduction, 33(1), 78–84.

Mcgraw, W. J., & Scarpa, J. (2004). Mortality of freshwater-acclimated *Litopenaeus vannamei* associated with acclimation rate , habituation period , and ionic challenge, 236, 285–296. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.037>

Mcgraw, W. J., & Scarpa, J. (2016). Minimum environmental potassium for survival of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in freshwater, (February).

Perez-velazquez, M., Davis, D. A., Roy, L. A., & González-félix, M. L. (2012). Effects of water temperature and Na + : K + ratio on physiological and production parameters of *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity water. *Aquaculture*, 342–343, 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.008>

Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L., & Lef, J. W. (2010). Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange , superintensive culture systems, 299, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.021>

Roy, L. A., Davis, D. A., Saoud, I. P., & Henry, R. P. (2007). Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival , growth , and respiration of the Pacific white shrimp , *Litopenaeus vannamei* , reared in low salinity waters, 262, 461–469. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.10.011>



- Salmah, U., Ahmed, B., Atkinson, N. L., Desbois, A. P., & Little, D. C. (2018). Prophylactic properties of biofloc- or Nile tilapia-conditioned water against *Vibrio parahaemolyticus* infection of whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) Prophylactic properties of bio floc- or Nile tilapia-conditioned water against *Vibrio parahaemolyticus* infection of whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 498(September), 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.09.002>
- Sanjoy, D., Kumar, V., Arunachalam, K., Koyadan, N., & Vijayan, K. (2019). Changes in soil and water quality at sediment – water interface of *Penaeus vannamei* culture pond at varying salinities, (May 2018), 1096–1106. <https://doi.org/10.1111/are.13984>
- Schveitzer, R., Arantes, R., Fóes, P., Costódio, S., Espírito, C. M., Vinatea, L., ... Roberto, E. (2013). Aquacultural Engineering 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*, 56, 59–70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>
- Serra, F., Gaona, C., Furtado, P., Poersch, L., & Wasielesky, W. (2015). Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Springer International Publishing Switzerland*, 16. <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9887-6>
- Siebers, D., Winkler, A., Lucu, C., & Thedens, G. (1985). Na-K-ATPase generates an active transport potential in the gills of the hyperregulating shore crab. *Marine Biology*, 87, 185–192.
- Sommer, M., & Mantel, I. (1991). Effects of dopamine and acclimation to reduce salinity on the concentration of cycloic AMP in the gills of the green crab *Carcinus maenas*. *Gen. Comp. Endocrinol*, 82, 185–192.
- Thi, D., Huong, T., Jayasankar, V., & Wilder, M. (2010). Na / K-ATPase activity and osmo-ionic regulation in adult whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to low salinities, 304, 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.025>
- Vaca Nuñez, G. (2016). *Elaboración y determinación de la eficiencia de dos filtros biológicos evaluados en un cultivo de camarón blanco (Litopenaeus vannamei) en sistemas de recirculación acuícola*. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
- White, P. A., Kalf, J., Rasmussen, J. B., & Gasol, J. M. (1991). The Effect of Temperature and Algal Biomass on Bacterial Production and Specific Growth Rate in Freshwater and Marine Habitats, 99–118.



Willingham, W. (1976). Ammonia toxicity. Colorado - USA.

Zhao, D., Pan, L., Huang, F., Wang, C., & Xu, W. (2016). Effects of Different Carbon Sources on Bioactive Compound Production of Biofloc , Immune Response , Antioxidant Level , and Growth Performance of Litopenaeus vannamei in Zero-water. *Journal Of the World Aquaculture Society*, 11. <https://doi.org/10.1111/jwas.12292>

?



8. ANEXOS

Anexos 1.Construcción de tanques para sistemas de cultivo.



Fuente: (Ortiz, 2019)



Anexos 2. Instalación de sistemas de aireación en tanques Biofloc.



Fuente: (Ortiz, 2019)

Anexos 3. Turbidez del tanque, formación del biofloc.



Fuente: (Ortiz, 2019)

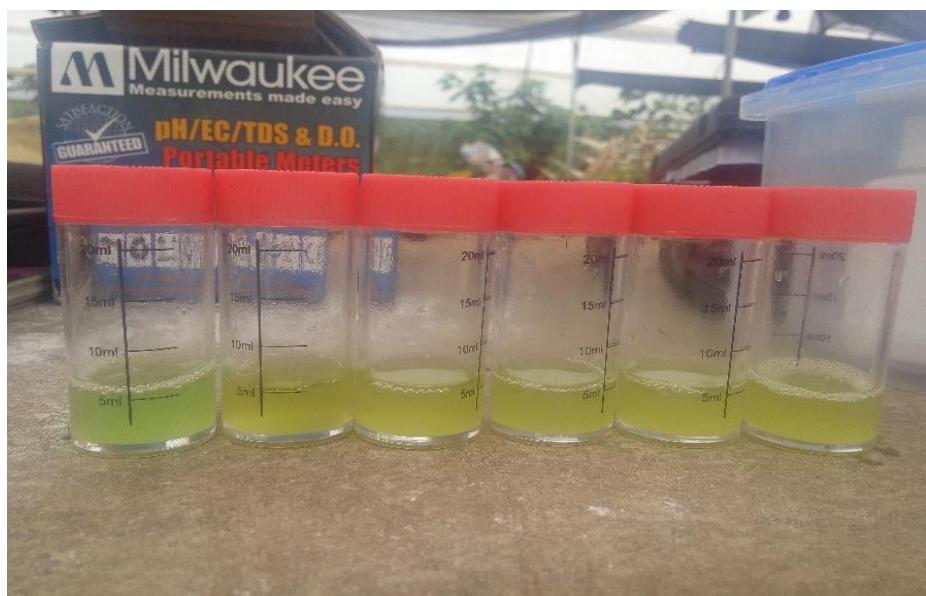


Anexos 4. Niveles altos de NAT 8mg/L.



Fuente: (Ortiz, 2019)

Anexos 5. Descenso de los niveles de NAT 0.025 mg/L.



Fuente: (Ortiz, 2019)

Anexos 6. Medición de floculo microbiano en conos Imhoff.



Fuente: (Ortiz, 2019)

Anexos 7. Medición de larvas.



Fuente: (Ortiz, 2019)



Anexos 8. Mortalidad de larvas.



Fuente: (Ortiz, 2019)



Fuente: (Ortiz, 2019)



Anexos 9. Tamaño irregular en el crecimiento de las PL



Fuente: (Ortiz, 2019)

Anexos 10. PL14 del Lote 5 control negativo, salinidad 3 ppt.



Fuente: (Ortiz, 2019)



Anexos 11. Lote 5, día de cultivo 6, edad de las PL :20 días.



Fuente: (Ortiz, 2019)

Anexos 12. Post larvas del Lote 5, edad: 30 días.



Fuente: (Ortiz, 2019)



Anexos 13. Sedimentos de los tanques de aclimatación.



Fuente: (Ortiz, 2019)

Anexos 14. Equipos usados en la investigación, multiparámetros(I) y oxímetro(D).



Fuente: (Ortiz, 2019)



Anexos 15. Reactivos empleados para la medición de NAT y Alcalinidad



Fuente: (Ortiz, 2019)

Anexos 16. Calentadores usados en los tanques de aclimatación.



Fuente: (Ortiz, 2019)