

**Universidad de San Carlos de Guatemala  
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**



**Efecto de una mezcla de probióticos en la calidad de agua aplicada a un sistema de producción intensiva de alevines de tilapia**

**Presentado por**

**T. A. María Isabel Pérez González**

**Para otorgarle el título de**

**Licenciada en Acuicultura**

**Guatemala, noviembre de 2018**

**Universidad de San Carlos de Guatemala  
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**



**Efecto de una mezcla de probióticos en la calidad de agua aplicada a un sistema de producción intensiva de alevines de tilapia**

**Presentado por**

**T. A. María Isabel Pérez González**

**Para otorgarle el título de**

**Licenciada en Acuicultura**

**Asesor: M. Sc. Josué García Pérez**

**Guatemala, noviembre de 2018**

El Director del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-, después de conocer el dictamen favorable del M.Sc. Luis Francisco Franco Cabrera, Coordinador Académico, sobre el trabajo de graduación de la estudiante universitaria **María Isabel Pérez González**, titulado “Efecto de una mezcla de probióticos en la calidad de agua aplicada a un sistema de producción intensiva de alevines de tilapia”, da por este medio su aprobación a dicho trabajo. IMPRIMASE.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”



M.Sc. Héctor Leonel Carrillo Ovalle

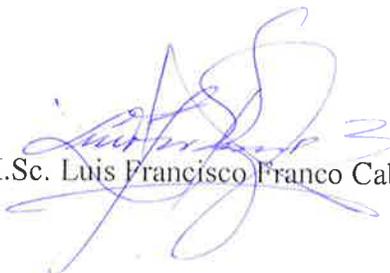


Guatemala, mayo 2018



El Coordinador Académico del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura –CEMA-, después de conocer el dictamen del asesor Lic. Josué García Pérez, al trabajo de graduación de la estudiante universitaria **María Isabel Pérez González**, titulado “Efecto de una mezcla de probióticos en la calidad de agua aplicada a un sistema de producción intensiva de alevines de tilapia”, da por este medio su aprobación a dicho trabajo.

**“ID Y ENSEÑAD A TODOS”**



M.Sc. Luis Francisco Franco Cabrera

Guatemala, mayo 2018

**Universidad de San Carlos de Guatemala -USAC-  
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-**

**CONSEJO DIRECTIVO**

Presidente	Dra. Juana Lorena Boix Moran
Secretaria	M. Sc. Irene Franco Arenales
Representante Docentes	Dr. Pedro Julio García Chacón M. Sc. Erick Roderico Villagrán Colon
Representante del Colegio de Médicos Veterinarios, Zootecnistas y Acuicultores	Licda. Liliana Maricruz Maldonado Noriega
Representantes Estudiantiles	T. A. Alejandra Raquel Contreras Perdomo T. A. Karol Rubí Rivas Díaz

## **Agradecimientos**

A Dios, por permitirme culminar esta etapa académica.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, Alma Mater y al Centro de Estudios del Mar y Acuicultura.

A cada uno de los colaboradores de la empresa Paraíso Springs Aquaculture Guatemala y CIA Ltda., por los conocimientos brindados y la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo.

A mis padres Gustavo Pérez y Norma González.

A mi asesor Josué García por los conocimientos brindados y todas las maneras en que he recibido su apoyo.

A Adela Pérez y María José Mendoza por el apoyo en este proceso.

## **Dedicatoria**

A mi familia y amigos quienes han sido el soporte para llegar a ser la persona que soy.

## Resumen

El presente trabajo se llevó a cabo en la empresa acuícola Paraíso Springs, Aquaculture Guatemala y CIA Ltda., ubicada en el municipio de San Luis, departamento de Petén. El objetivo fue evaluar el efecto de una mezcla de probióticos (BZT® Waste Digester + BZT® Aquaculture) en la calidad del agua aplicado a un sistema de producción intensiva de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* con el fin reducir la concentración de los compuestos tóxicos.

Se realizaron dos pruebas en distintos periodos de tiempo, para lo que se utilizó un diseño completamente al azar por duplicado, con un tratamiento y un control. Las dosis de probióticos utilizadas fueron: 3 g/m<sup>3</sup>/ a cada dos días (T1) y 0.075 g/m<sup>3</sup>/día (T2). Las variables evaluadas fueron: el porcentaje de recambio agua, parámetros fisicoquímicos (temperatura, oxígeno disuelto, pH, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y PO<sub>4</sub>- P y TSS), la tasa de remoción de amonio y parámetros zootécnicos del cultivo.

Debido a los bajos niveles de oxígeno provocados por la alta carga en el sistema fue necesario incrementar las tasas de recambio de agua, lo cual influyó de manera negativa en el desarrollo de una población de bacterias para llevar a cabo los procesos de nitrificación, lo que a su vez redujo la eficiencia del probiótico en la remoción de amonio, obteniendo un valor de 80 – 90 % en T1 y un 22 % en T2, de la misma manera debido al corto tiempo de retención del producto en el agua, la tasa de sobrevivencia (S%) y la ganancia en peso porcentual (GP%) no presentaron diferencia significativa.

## Abstract

This study was done in Paraíso Springs, A.G. y CIA Ltda., an aquaculture company, located in San Luis, Petén, Guatemala. The main objective in this investigation was to evaluate the effect of a probiotic mixture (BZT® Waste Digester + BZT® Aquaculture) on water quality in Nile tilapia fingerlings *Oreochromis niloticus* ponds, to reduce toxic metabolites concentration.

The probiotic doses used, were: 3 g/m<sup>3</sup>/ every two days (T1) and 0.075 g/m<sup>3</sup>/day (T2). For the statistical design was used a randomized complete design with 2 replications, with a treatment and a control.

This study evaluated different variables: percentage of water exchange, ammonium removal rate and zootechnical parameters; physiochemical water quality parameters: temperature, dissolved oxygen, hydrogen potential pH, nitrite NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, ammonium NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, phosphate PO<sub>4</sub><sup>-</sup> P and total suspended solids TSS.

The low concentration of oxygen in water caused higher water exchange, therefore the proliferation of the bacterial strain was not possible, which concludes the nitrification process was not realized; in the same way the short period of bacterial retention in water, reduced the efficiency of the probiotic. The ammonium removal rate was 80 – 90 % for T1 and 22 % - 45% for T2. The survival rate and the weight gain were not significant.

# Índice

<b>1. Introducción</b>	1
<b>2. Antecedentes</b>	2
2.1 Sistemas Biofloc para la producción de bacterias probióticos	2
2.2 Utilización de bacterias nitrificantes como biorremediadoras del agua en cultivos acuícolas	3
2.3 Utilización de probióticos para la reducción de amoniac	3
2.4 Efecto del uso de probióticos sobre la calidad de agua y parámetros de crecimiento	4
<b>3. Marco teórico</b>	5
3.1 Probióticos	5
3.2 Funciones de los probióticos en acuicultura	5
3.3 Mecanismo de acción para mejora de la calidad de agua	6
3.4 Calidad de agua en sistemas acuícolas	7
3.4.1 Transformación del nitrógeno	7
3.4.2 Equilibrio amoniac- amonio	7
3.4.3 Ion nitrito $\text{NO}_2^-$	8
3.5 Efecto de amoniac en la fisiología de los peces	8
<b>4. Objetivos</b>	10
4.1 Objetivo General	10
4.2 Objetivos específicos	10
<b>5. Hipótesis</b>	11
5.1 Hipótesis nula	11
5.2 Hipótesis alterna	11
<b>6. Metodología</b>	12
6.1 Ubicación geográfica	12
6.2 Descripción de los tratamientos	12

6.3	Diseño experimental	13
6.4	Manejo del experimento	14
6.4.1	Aplicación y activación de los probióticos	15
6.4.2	Alimentación	15
6.5	Cálculo del porcentaje de recambio de agua	15
6.6	Monitoreo de Calidad del agua	15
6.7	Cálculo Tasa de remoción de amonio $\text{NH}_4^+$ (TRA)	16
6.8	Medición de parámetros zootécnicos	16
6.9	Análisis estadístico	17
<b>7.</b>	<b>Resultados y Discusión</b>	<b>18</b>
7.1	Porcentaje de recambio de agua y oxígeno disuelto	18
7.1.1	Oxígeno disuelto	19
7.2	Parámetros de calidad de Agua	20
7.2.1	Temperatura	20
7.2.2	Potencial de Hidrógeno (pH)	22
7.2.3	Ion amonio $\text{NH}_4^+$	24
7.2.4	Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ )	26
7.2.5	Orto-fosfatos ( $\text{PO}_4\text{-P}$ )	28
7.2.6	Total de sólidos suspendidos TSS	30
7.3	Tasa de remoción de amonio $\text{NH}_4^+\%$	31
7.4	Parámetros zootécnicos	32
7.4.1	Ganancia en peso porcentual (GP%) y sobrevivencia (S%)	32
7.4.2	Porcentaje de sobrevivencia	33
<b>8.</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>35</b>
<b>9.</b>	<b>Recomendaciones</b>	<b>36</b>
<b>10.</b>	<b>Bibliografía</b>	<b>37</b>
<b>11.</b>	<b>Anexo</b>	<b>43</b>

## Índice de figuras

<i>Figura 1.</i> Dilución del amoniaco en el agua	7
<i>Figura 2.</i> Ubicación geográfica de San Luis	12
<i>Figura 3.</i> Porcentaje de recambio de agua para cada prueba	18
<i>Figura 4.</i> Comportamiento de oxígeno y % de recambio en T1 y C1	19
<i>Figura 5.</i> Comportamiento de oxígeno y % de recambio en T2 y C2	20
<i>Figura 6.</i> Comportamiento de temperatura en T1 y C1	21
<i>Figura 7.</i> Comportamiento de temperatura en T2 y C2	22
<i>Figura 8.</i> Comportamiento del pH en C1 y T1	23
<i>Figura 9.</i> Comportamiento del pH en C2 y T2	23
<i>Figura 10.</i> Concentración de $\text{NH}_4^+$ en C1 y T1	25
<i>Figura 11.</i> Comportamiento de $\text{NH}_4^+$ en C2 y T2	25
<i>Figura 12.</i> Concentración de nitritos en T1 y C1	27
<i>Figura 13.</i> Concentración de nitritos en T2 y C2	27
<i>Figura 14.</i> Comportamientos de $\text{PO}_4$ en C1 y T1	29
<i>Figura 15.</i> Comportamiento de $\text{PO}_4$ en C2 y T2	30
<i>Figura 16.</i> Comportamiento de TSS en C1 y T1	30
<i>Figura 17.</i> Comportamientos de TSS en C2 y T2	31
<i>Figura 18.</i> Crecimiento de larvas para ambas pruebas	33
<i>Figura 19.</i> Tasa de sobrevivencia en ambas pruebas	33

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Abreviaturas utilizadas para cada prueba	13
<b>Tabla 2.</b> Variables y sus indicadores	14
<b>Tabla 3.</b> Remoción de amonio $\text{NH}_4^+$ en mg/l promedio en ambos tratamientos y controles	32

## 1. Introducción

Los sistemas acuícolas de producción intensiva, en particular los sistemas de recirculación se caracterizan por elevar las concentraciones de amoníaco y generar altos porcentajes de materia orgánica los cuales se acumulan en el fondo del estanque como sedimento (Jian-yu, Xiang-wen, Ying, y Shao-rong, 2005). En condiciones aerobias o anaerobias de descomposición, el material orgánico sedimentado se reincorpora a la columna de agua a través de minerales, compuestos químicos y gases (Torres, 2005) y, que a su vez, generan condiciones adversas para los organismos, debido a la toxicidad del mismo (Ingle, 2003).

Existen tres métodos comunes para la eliminación de amoníaco en los sistemas de acuicultura: nitrificación, intercambio de iones y extracción de aire. La nitrificación es un proceso que se realiza por oxidación de amoníaco a nitrato a través bacterias autótrofas (Aly, Abdel, Lotfy, Abdelaty, & Sallam, 2016), para acelerar este proceso es necesario la aplicación de probióticos, los cuales actualmente poseen un considerable interés para la producción acuícola, ya que puede ser un método profiláctico y amigable con el medio ambiente y pueden contribuir a un mejor rendimiento de cultivo (Sorrosa, et al., 2009).

El presente trabajo pretende evaluar el efecto de una mezcla de probióticos en la calidad del agua aplicado a un sistema de recirculación dedicado a la producción intensiva de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*, con el fin de disminuir la concentración de los metabolitos tóxicos, reducir el porcentaje de agua utilizado en el sistema y describir el efecto de los mismos sobre los parámetros zootécnicos del cultivo.

## 2. Antecedentes

En acuicultura, los probióticos se han utilizado como un factor para mejorar la calidad del agua y los sedimentos del fondo de estanques, creando así un ambiente libre de estrés para los organismos y a la vez mejorar las condiciones de peso, tamaño y nutrición. Diversos autores, afirman que entre otras funciones el uso de probiótico en acuicultura puede desplazar microorganismos patógenos y controlar su grado de virulencia (Balcazar, Blas, Ruiz, Cunningham, Vendrell, & Mu'zquiz, 2006; Maid, 2015).

### 2.1 Sistemas Biofloc para la producción de bacterias probióticos

La tecnología biofloc es una de las alternativas amigables para la producción súper-intensiva, la cual consiste en el aprovechamiento de residuos del alimento, materia orgánica y compuestos inorgánicos tóxicos a través de un agregado de microalgas, bacterias, protozoos presentes en los medios acuáticos, dando condiciones de dominancia a comunidades autótrofas y heterótrofas, resolviendo sustancialmente los problemas de saturación de nutrientes a partir de su reciclaje (Collazos, y Arias, 2015).

Se utilizó la tecnología biofloc en un sistema de producción de tilapia, con el fin de describir el desarrollo de la comunidad microbiana, como respuesta a la inclusión de melaza y polvo de arroz como fuentes de carbono. Como respuesta a la inclusión de melaza se obtuvieron 18 especies de bacterias heterotróficas, once patógenos oportunistas y siete bacterias probióticas. Con la inclusión de melaza + polvo de arroz se encontraron 17 especies de bacterias, seis patógenos, nueve degradativos y dos bacterias probióticas. Como conclusión se señaló que la tecnología biofloc funciona como estrategia de control de patógenos ya que los probióticos desplazan las bacterias patógenas oportunistas como: *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Klebsiella* (Gutiérrez, Monroy, Handam, Mejía, y Rodríguez, 2016).

## 2.2 Utilización de bacterias nitrificantes como biorremediadoras del agua en cultivos acuícolas

Entre las bacterias que aceleran los procesos de nitrificación, oxidación de nitritos, desnitrificación se han utilizado género *Nitrosomas*, *Nitrospira*, *Pseudomonas*, *Comamonas*, estas son necesarias en sistemas de recirculación [RAS]. Se estudió la expresión genética de las bacterias para la reducción de metabolitos mediante la segregación de amoníaco monooxigenasa (AmoA), nitrito reductasa (nirS y nirK), y Sulfato reductasa disimilatoria (dsrA), para nitrificación, desnitrificación y reducción de sulfato, respectivamente (Schreier, Mirzoyan, & Saito, 2010).

Se realizó una serie de tratamientos en un sistema de acuarios con larvas de camarón a una densidad de 270 larvas/m<sup>3</sup>, en los cuales se colocaron tapetes de geotextil, como sustrato para la fijación de microorganismos entre ellos bacterias nitrificantes, donde se utilizó melaza para la adición de carbono a fin de mejorar la metabolización bacteriana. Se observó que los principales nutrientes medidos tales como amonio, nitritos, nitratos y fosfatos obtuvieron mejores resultados en los tratamientos donde hubo presencia de bacterias nitrificantes, aunque no hubo diferencia significativa. Entre las bacterias identificadas con gen nitrato-reductasa fueron: *Shewanella algae* y *Bacillus denitrificante* (Mendoza, 2010).

## 2.3 Utilización de probióticos para la reducción de amoniaco

Se midió la eficiencia de la eliminación de amoniaco en un cultivo de lubina europea *Dicentrarchus labrax*, mediante tres tecnologías diferentes: carbón activado, zeolita y probióticos. La eficiencia de eliminación de amoniaco de los productos ensayados fue significativa ( $P \leq 0.05$ ). La mejor tasa para la reducción de amoniaco (76.66%) se obtuvo con Zeolita 10ppt, por su parte con la utilización de probióticos (EM®) se obtuvo una tasa de remoción de amoniaco del 64.8%, un SGR de 4.568%/día y una supervivencia del 90%. Se concluyó que el uso de Probióticos (EM®) y Zeolita para la remoción de amoniaco podría ser una buena opción alternativa potencial (Aly, Abdel, Lotfy, Abdelaty, & Sallam, 2016).

#### 2.4 Efecto del uso de probióticos sobre la calidad de agua y parámetros de crecimiento

Se evaluó el efecto de dos bacterias probióticas como respuesta a la exposición de tilapia gris *Oreochromis niloticus* a una concentración de 0,1 mg/l y 0.5 mg/l de amonio no ionizado UIA-N durante 14 días. Como indicador de estrés se utilizó el perfil hematológico. El uso de probióticos en ambos casos redujo el grado de estrés y restauró al estado fisiológico del pez, teniendo diferencia significativa para ambos tratamientos (Salama, Ghanim, Abada, y Sherif, 2015).

Se realizó un inóculo de bacterias *Bacillus* sp en concentración de 5.5 mg/l a estanques de camarón *Fenneropenaeus indicus*, para evaluar el efecto en la calidad de agua del cultivo. Los resultados en los parámetros de calidad del agua como temperatura, pH, salinidad, Oxígeno disuelto (OD), BOD<sub>5</sub> y amoníaco no tuvieron diferencia significativa, sin embargo los valores del amoníaco y DBO<sub>5</sub> fueron ligeramente menor al control, al cual no se le agregaron bacterias (Ziaei, et al., 2006).

Por otra parte se evaluó el efecto de la aplicación de probióticos Nitrosomonas (1.62 kg / ha) y Nitrobacter (0.82 kg / ha) en estanque de tierra, cultivados con *Pangasius sutchi*, *Catla catla* y *Labeo rohita* a fin de determinar la variación en los parámetros de calidad del agua y las poblaciones de bacterias heterotróficas totales (THB), bacterias beneficiosas (especies de Nitrosomonas y Nitrobacter) y bacterias patógenas (*Pseudomonas*). Se observó que en los estanques tratados, la THB y la carga bacteriana beneficiosa aumentaron y la carga de *Pseudomonas* patógena disminuyó. Se observó que las concentraciones de amoníaco, nitrito y fosfatos eran bajas en los estanques tratados comparado al estanque de control (Padmavathi, Sunitha, & Veeraiah, 2012).

### 3. Marco teórico

#### 3.1 Probióticos

Los probióticos son microorganismos beneficiosos para la salud del huésped, de gran importancia en la acuicultura para el control de enfermedades, complemento en incluso reemplazo de compuestos antimicrobianos. Existe una amplia gama de microorganismos utilizados tales como microalgas, levaduras, Gram-positivas (*Bacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*) y Gram-negativas (*Aeromonas*, *Alteromonas*, *Photobacterium*, *Pseudomonas* y *Vibrio*). El modo de acción de los probióticos es poco estudiado, sin embargo se incluye la exclusión competitiva, es decir, inhiben activamente la colonización de patógenos potenciales en el tracto digestivo por antibiosis o por competencia por nutrientes y/o espacio, alteración del metabolismo microbiano y/o mediante la estimulación de la inmunidad del huésped. Los probióticos pueden estimular el apetito y mejorar la nutrición mediante la producción de vitaminas, la desintoxicación de los compuestos en la dieta y la descomposición de componentes no digeribles (Irianto, & Austin, 2002).

La incorporación de probióticos es una herramienta viable para reducir o eliminar la incidencia de microorganismos patógenos, y además constituye una alternativa para sustituir el uso de agentes quimioterapéuticos en la prevención de enfermedades infectocontagiosas (Sorrosa, Padilla, Acosta, Román, Acosta, & Valcárcel, 2009).

#### 3.2 Funciones de los probióticos en acuicultura

- Producción de compuestos inhibitorios.
- Competición por compuestos químicos o energía disponible.
- Competición por sitios de adhesión.
- Aumento de la respuesta inmune.
- Mejora de la calidad del agua.
- Fuente de macro-micronutrientes (Sayes, Leyton, & Riquelme, 2016).

### 3.3 Mecanismo de acción para mejora de la calidad de agua

Los probióticos aportan enzimas, para la digestión de materia en suspensión y en los fondos, mejorando la calidad del agua mediante la reducción de concentraciones de amonio, nitrito y nitrato, así también disminuir la carga elevada de materia orgánica (Melgar, Barba, Álvarez, Tovilla, y Sánchez, 2013).

Se afirma que el modo de acción de los inóculos bacterianos es la mejora de procesos naturales sobre la materia orgánica, degradación, nitrificación, eliminación de amoníaco, desnitrificación, oxidación de sulfuros y degradación de contaminantes tóxicos.

Las poblaciones bacterianas responden a la disponibilidad de sustrato, de este modo el número de UFC de una población bacteriana va en aumento o disminución proporcionalmente a la concentración de amoníaco presente en el agua. Así también cuando las concentraciones de amoníaco disminuyen, la abundancia de bacterias nitrificantes disminuirá. Las bacterias del género *Bacillus* están asociadas a la mejora de la calidad de agua, ya que las Gram-positivas son mejores convertidores de materia orgánica a CO<sub>2</sub> que las Gram-negativas. Durante el ciclo de producción, altos niveles de bacterias Gram-positivas puede reducir al mínimo la acumulación de carbono orgánico particulado (Balcázar, Ruiz, Cunningham, Vendrell, & Mu'zquiz, 2006).

En el proceso de biorremediación las enzimas producidas por las bacterias desempeñan el papel de catalizadores, los cuales aceleran las reacciones bioquímicas en el suelo y la columna de agua. Cuando se le añade al agua de cultivo, o se disemina por todo el suelo del estanque, las enzimas son capaces de degradar los principales constituyentes orgánicos que normalmente se encuentran presentes. Utilizan la materia orgánica como fuente de nutrientes, lo cual reduce la cantidad de desecho acumulado. Además, las bacterias nitrificantes y desnitrificantes específicas convierten el NH<sub>3</sub> y el NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en gas nitrógeno, reduciendo así el nivel de estos compuestos tóxicos. Algunas bacterias beneficiosas también pueden degradar los H<sub>2</sub>S tóxicos, mejorando la calidad del agua y el olor (Santos, 2013).

### 3.4 Calidad de agua en sistemas acuícolas

#### 3.4.1 Transformación del nitrógeno

La forma más tóxica de las transformaciones del nitrógeno para los peces es el amoníaco  $\text{NH}_3$ , los peces digieren la proteína a través de la alimentación y este es excretado a través de las branquias, orina y heces (Kaushik, 2000). La cantidad, excretada por los peces varía con el importe de alimento suministrado en el estanque o sistema de cultivo. En el agua, el amoníaco se produce de dos formas,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NH}_3$  que en conjunto son conocidas como nitrógeno amoniacal total (TAN). El ion  $\text{NH}_4^+$  se llama amoníaco ionizado porque tiene una carga eléctrica positiva, y  $\text{NH}_3$  se llama el amoníaco no ionizado (UIA) porque no tiene carga. Esta diferencia es importante para saber cuál de las formas es predominante en un momento dado en un sistema acuático, y varían respecto a la temperatura del agua y el pH (Francis, Watson, & Poudel, 2015).

#### 3.4.2 Equilibrio amoníaco- amonio

La proporción de  $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4^+$  en estanques que se utilizan para cultivo intensivo de peces las concentraciones de nitrógeno orgánico, usualmente se encuentran por debajo de 1mg/L, en estanques de piscicultura los florecimientos de fitoplancton son grandes y la concentración de nitrógeno orgánico puede ser mayor de 2 o 3 mg/L (Arredondo, y Palafox, 1996).

Debido a que el amoníaco es potencialmente tóxico para los peces, la influencia del pH en la concentración del amoníaco es muy importante. Cuando el amoníaco se disuelve en el agua, se establece el siguiente equilibrio (Figura 1)



*Figura 1.* Dilución del amoníaco en el agua

La relación de concentración de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NH}_3$ , se incrementa a la vez que el pH decrece, y esta relación disminuye cuando el valor de pH se incrementa. Los valores del amoníaco son

más altos durante la tarde cuando los niveles de CO<sub>2</sub> se hallan en su valor mínimo, y es menor, cuando el CO<sub>2</sub> está en valores altos. La toxicidad del amoníaco se hace más severa cuando ocurre una disminución en el oxígeno (Boyd, 2001).

### 3.4.3 Ion nitrito NO<sub>2</sub><sup>-</sup>

El nitrito es un intermedio en la oxidación de amonio a nitrato, una concentración elevada de nitrito ambiental es un problema potencial para los peces de agua dulce ya que el nitrito se toma activamente a través de las branquias en la competencia con la captación de iones cloruro, siendo tóxico en múltiples funciones fisiológicas incluyendo procesos iónicos regulatorios, respiratorios, cardiovasculares, endocrinos. Una consecuencia crítica de la absorción de nitritos es la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina, lo que compromete el transporte de oxígeno en sangre (Kroupova, Machova, & Svobodova, 2005).

Los nitritos NO<sub>2</sub> son tóxicos para los peces, pero alientan el crecimiento y colonización de Nitrobacter para convertirlo en forma de nitrato NO<sub>3</sub> que es menos tóxico. El nitrato se absorbe por las plantas acuáticas y algas en los sistemas acuícolas. El ciclo de nitrógeno está directamente influenciada por los niveles de oxígeno y alcalinidad, ya que con el aumento de condiciones alcalinas a menudo preceden a un aumento en el nivel de amoníaco no ionizado tóxico. Vale la pena señalar que los niveles de amoníaco favorecen el crecimiento de fitoplancton específico y especies de algas, lo cual altera la biodiversidad acuática y la dinámica de un ecosistema (Sergean, 2014).

### 3.5 Efecto de amoníaco en la fisiología de los peces.

El amoníaco libre es el más tóxico de todos los compuestos nitrogenados 0.2 – 0.5 mg/L para causar la muerte de organismos y en concentraciones de 0.01 – 0.02 mg/L pueden ser tolerados por periodos prolongados, la exposición prolongada puede generar enfermedades crónicas en las branquias, provocando una inflamación y a la vez estimula la producción de células en la superficie de las láminas branquiales provocando un “Síndrome de hiperplasia branquial.” obstruyendo la capacidad de transporte de la hemoglobina, así puede destruir las

mucosas de la piel y el intestino provocando hemorragias externas e internas que dan el sistema nervioso central, puede generar hidropesía y degeneración en las aleta. A un pH alcalino, una concentración de 0.02 mg/L de  $\text{NH}_3$  puede alterar el sistema osmoregulador incrementando la permeabilidad total del organismo (Jiménez, 2004).

## **4. Objetivos**

### 4.1 Objetivo General

- 4.1.1 Evaluar el efecto de una mezcla de probióticos en la calidad de agua aplicada a un sistema de producción intensiva de alevines de tilapia.

### 4.2 Objetivos específicos.

- 4.2.1 Establecer la relación entre la actividad del probiótico y los porcentajes de recambio de agua.
- 4.2.2 Describir el comportamiento de la calidad del agua como respuesta a la inclusión de probióticos (BZT® Waste Digester y BZT® Aquaculture)
- 4.2.3 Determinar la tasa de remoción de amonio efectuada por los probióticos (BZT® Waste Digester y BZT® Aquaculture) en un sistema de producción intensiva de alevines de tilapia.
- 4.2.4 Comparar el efecto del uso de probióticos sobre los parámetros zootécnicos del cultivo.

## **5. Hipótesis**

### 5.1. Hipótesis nula:

La adición de una mezcla de probióticos al agua de cultivo no genera diferencia significativa entre las variables de calidad de agua y/o parámetros zootécnicos.

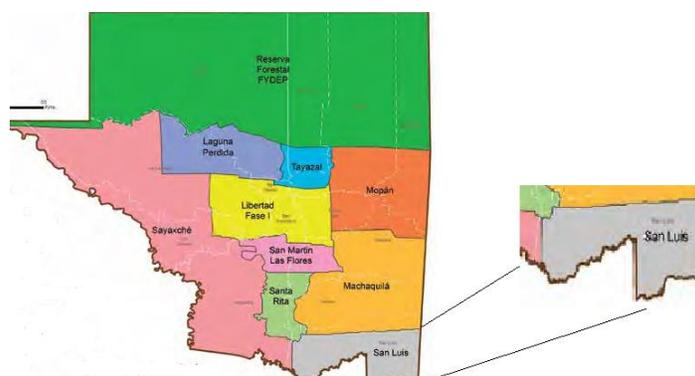
### 5.2 Hipótesis alterna:

La adición de una mezcla de probióticos al agua de cultivo genera diferencia significativa entre las variables de calidad de agua y/o parámetros zootécnicos.

## 6. Metodología

### 6.1 Ubicación geográfica

La presente investigación se llevó a cabo en la empresa acuícola Paraíso Springs Aquaculture Guatemala CIA y Ltda., ubicada en el caserío Los Ángeles, municipio de San Luis, departamento de Petén (Figura 2), en coordenadas UTM Este X 0361743; Norte Y 1738762; huso 16; m.s.n.m. 17 (Guzmán, 2012).



**Figura 2.** Ubicación geográfica de San Luis (Secretaría de Planificación y Programación de la Presidencia [SEGEPLAN], 2012)

### 6.2 Descripción de los tratamientos

Se evaluó el efecto de una mezcla de probióticos (BZT® Waste Digester + BZT® Aquaculture) sobre la calidad de agua y parámetros zootécnicos en un sistema de recirculación de producción intensiva de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*.

Se realizaron dos pruebas en distinto tiempo y con diferentes dosis de probióticos; en la primera prueba se utilizó una dosis de  $3 \text{ g/m}^3$  a cada dos días (T1); para la segunda prueba se utilizó  $0.075 \text{ g/m}^3/\text{día}$  (T2). Las dosis fueron calculadas en base al manual de uso de BTZ (United Technologies, Inc., USA) Hatchery ( $0.1\text{-}0.25 \text{ g/m}^3/\text{día}$  con carga  $0.2\text{-}0.8 \text{ kg/m}^3$ ). El tratamiento control (Tc) no se utilizó la adición de la mezcla de probióticos. La evaluación

fue en distinto periodo de tiempo, esto debido a que el número de estanques en la granja acuícola Paraíso Springs era limitado.

En el T1 la aplicación del probiótico se determinó a cada dos días, debido a que; al colocar melaza como fuente de carbono, el agua presentó alto grado de turbidez, lo cual afecta a los organismos en producción. Para el T2 la adición del probiótico se realizó diariamente debido a que la baja cantidad de melaza utilizada para este tratamiento no modificó el color del agua.

### 6.3 Diseño experimental

Para ambas pruebas se utilizó, un diseño completamente al azar por duplicado, con un tratamiento y un control al cual no se le agregó probióticos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Abreviaturas utilizadas para cada prueba

Tratamiento	Abreviatura
BZT 3 g/m <sup>3</sup> / a cada dos días	T1
Control 3 g/m <sup>3</sup> /a cada dos días	C1
BZT 0.075 g/m <sup>3</sup> /día	T2
Control 0.075 g/m <sup>3</sup> /día	C2

En cada una de las pruebas se utilizaron cuatro unidades de experimentación, siendo piletas rectangulares de concreto, conectadas a un sistema de recirculación, con un volumen de 20 m<sup>3</sup> y una carga inicial de 0.27 kg/m<sup>3</sup>. Para el sistema de aireación en cada estanque se colocaron tubos tipo airlift de pvc de 1 ¼” de diámetro y 1.20 m de largo. Las variables medidas durante el experimento se detallan en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Variables y sus indicadores

Variables independientes	
	Indicador
Potencial de Hidrógeno pH	sd
Oxígeno	mg/L
Temperatura	°C
Variables dependientes	
Amonio NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg/l
Nitritos NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg/l
Orto-fosfatos PO <sub>4</sub> -P	mg/l
Total de sólidos en suspensión TSS	ppt
Ganancia en peso porcentual	%
Sobrevivencia	%
Recambio de agua	%

Nota: sd = parámetro sin dimensión

#### 6.4 Manejo del experimento

Previo a iniciar el experimento se realizó un recambio de agua del 300% en cada unidad experimental, y se realizó un muestreo *In situ* de los parámetros físicos como; oxígeno disuelto OD, temperatura y pH. Conjuntamente se recolectó una muestra para el análisis químico de parámetros como; amonio NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, nitritos NO<sub>2</sub>, ortofosfatos PO<sub>4</sub>-P y el total de sólidos en suspensión TSS.

Para la adición de los probióticos, se pesaron con ayuda de una balanza (OHAUS™ Scout™ Pro) con un nivel de precisión de 0.01g. Para el T1 se pesaron 30 gramos de BZT® Waste Digester (BZT®WD) y 30 g de BZT® Aquaculture (BZT® AQ); para el T2 se pesó 0.75g de BZT AQ y 0.75g de BZT WD. Las bacterias fueron almacenadas en bolsas plásticas, en total oscuridad y con porcentaje de humedad mínimos ( $\leq 10\%$ ).

Durante los días de experimentación se realizaron sifoneos para remover materia orgánica del fondo únicamente en tratamiento control.

#### 6.4.1 Aplicación y activación de los probióticos

Para la activación del producto, se disolvió el probiótico en agua con aireación constante durante 10 minutos, esto con el fin de remover una capa de betaglucano que recubre las bacterias (Janeo, Corre, & Sakata, 2009). Una hora antes de agregar el probiótico se añadió melaza, como fuente de carbono para la activación del probiótico, a razón de 2,000 mL para el T1 y 60 mL para el T2.

#### 6.4.2 Alimentación

Durante la evaluación, a los organismos se les suministró alimento hormonado con 17-alfametilttestosterona, a una ración del 17%, con una frecuencia de ocho veces al día. La alimentación inició desde las 07:00 h finalizó a las 15:00 h.

#### 6.5 Cálculo del porcentaje de recambio de agua

El porcentaje de recambio de agua realizado en cada pileta, se manejó en función a la concentración de oxígeno disuelto. Para conocer el volumen total renovado en cada pileta, se llevó un registro diario de horas de recambio de agua; posteriormente el total de horas se procedió a multiplicarlo por el caudal de entrada ( $m^3/h$ ) (Anexo 1).

#### 6.6 Monitoreo de Calidad del agua

Los parámetros físicos evaluados *In situ* fueron: temperatura ( $^{\circ}C$ ), oxígeno disuelto (mg/L) y pH, los cuales se midieron en horario de 06:00 y 16:00 h, hora que coincidió con la primera y última alimentación.

Para medir la temperatura y oxígeno se utilizó un sistema portátil de medición YSI© 55, con precisión de 0.1  $^{\circ}C$  y 0.01 mg/L, para medir el pH, se utilizó un potenciómetro YSI© pH100.

Para el análisis químico se colectó una muestra de agua superficial, con la cual se analizaron los parámetros  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4\text{-P}$  y TSS por métodos espectrofotométricos (Merk© número 1. 14776.0001, 1.14752.001 y 1.14848.0001, respectivamente) con ayuda de un equipo Nova 60. Los datos recolectados durante la prueba fueron registrados en boletas de laboratorio (Anexo 2).

#### 6.7 Cálculo Tasa de remoción de amonio $\text{NH}_4^+$ (TRA)

Para determinar la tasa de remoción de amonio se realizó la modificación a la metodología descrita en previos estudios (Aly, Abdel, Lotfy, Abdelaty, & Sallam, 2016), la cual se calculó mediante las ecuaciones siguientes:

$$\text{Tasa de remoción de amonio \% de la fuente} = (\text{NH}_4^+\text{tratamiento} - \text{NH}_4^+\text{fuente}) * 100 / \text{NH}_4^+\text{fuente}$$

$$\text{Tasa de remoción de amonio; como \% del Control (ARRC)} = (\text{ARRS tratamiento} - \text{ARRS control}) * 100 / \text{ARRS control}.$$

Donde:

ARRS tratamiento = concentración de  $\text{NH}_4^+$  mg/L en el tratamiento

ARRS Control = concentración de  $\text{NH}_4^+$  mg/L del control

#### 6.8 Medición de parámetros zootécnicos

Para determinar la evolución en el crecimiento se utilizaron muestreos por el método volumétrico debido al tamaño de las larvas (Mendoza, 2010); los parámetros zootécnicos fueron evaluados fueren zootécnicos al inicio y al final de las pruebas, (García, et. al., 2013).

- Ganancia en peso porcentual (GP%)
  - $[(\text{Peso promedio final} - \text{peso promedio inicial}) / (\text{peso promedio final})] \times 100$

- Supervivencia (%)
  - $(\text{Número de peces al inicio} - \text{Número de peces al final} / \text{Número de peces al inicio}) \times 100$

## 6.9 Análisis estadístico

Se utilizó estadística paramétrica para cada variable evaluada se procedió a analizar efectos de tratamiento, utilizando la prueba t-Student con un nivel de confianza del 95%.

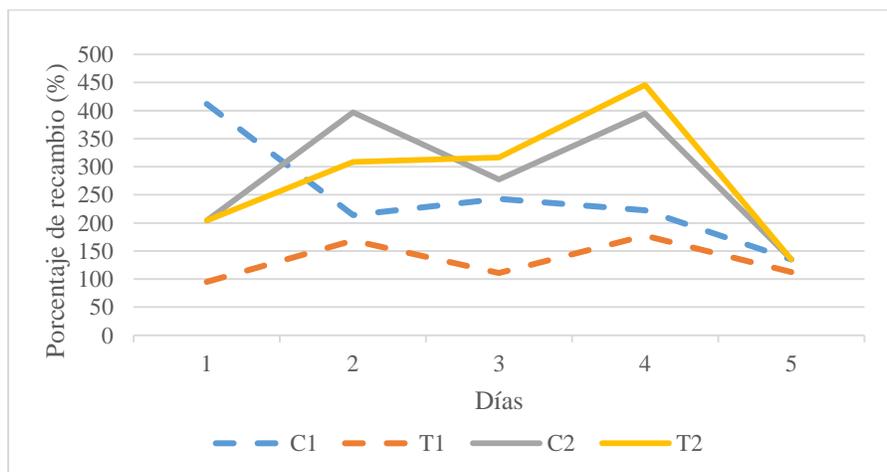
## 7. Resultados y Discusión

### 7.1 Porcentaje de recambio de agua y oxígeno disuelto

Los recambios de agua utilizados durante la prueba, estuvieron estrechamente relacionados en bajas concentraciones de oxígeno disuelto, las cuales en ocasiones fueron subletales para la especie. Como respuesta al riesgo de pérdida del cultivo, el volumen del recambio no fue uniforme en los tratamientos y los controles.

De acuerdo al manual del uso de BTZ (United Technologies, Inc., USA) y previas evaluaciones del uso de probióticos, se requiere un recambio de agua entre el 10 – 25% diario, a fin de facilitar los procesos como fijación de nitrógeno, oxidación, nitrificación y desnitrificación (Janeo, Corre, y Sakata, 2009; Melgar, Barba, Álvarez, Tovilla, y Sánchez, 2013; Mohamed, Traifalgar, & Serrano, 2013; El-Dahhar, El-ebiary, Abdel-Rahim, & Lotfy, 2014; Aly, Abdel, Lotfy, Abdelaty, & Sallam, 2016). Sin embargo, bajo las condiciones del sistema utilizado para esta investigación, la ausencia de un recambio continuo, provocó la disminución drástica del oxígeno, obteniendo valores letales entre 1.08 y 0.1 mg/L. Por tanto, fue necesario incrementar el volumen de entrada y salida de agua en un rango de 100 – 200% en el T1 y 200 - 400 % para el T2.

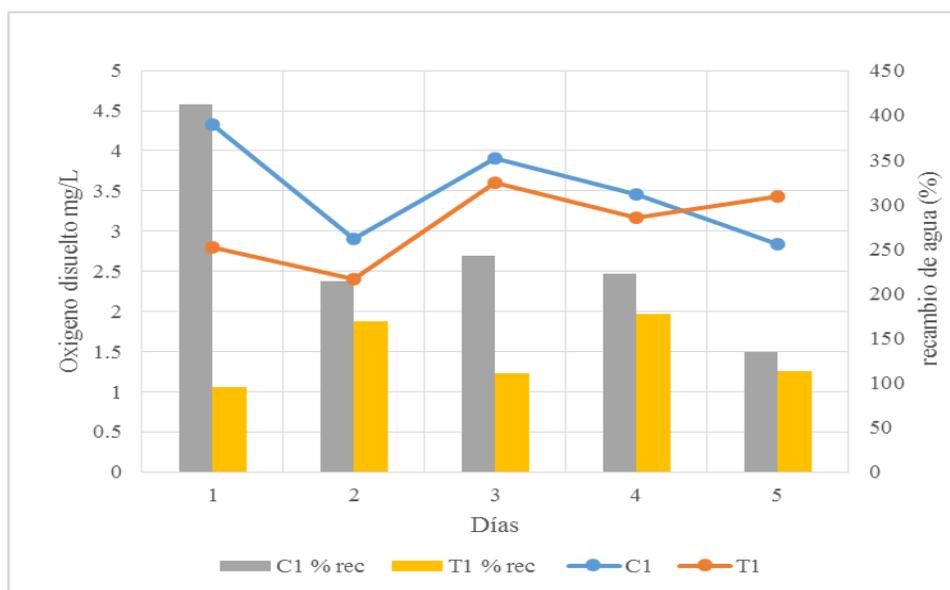
En la Figura 3 se observa el volumen de agua recambiado según cada tratamiento; los mayores porcentajes indican una menor concentración de oxígeno.



**Figura 3.** Porcentaje de recambio de agua para cada prueba

### 7.1.1 Oxígeno disuelto

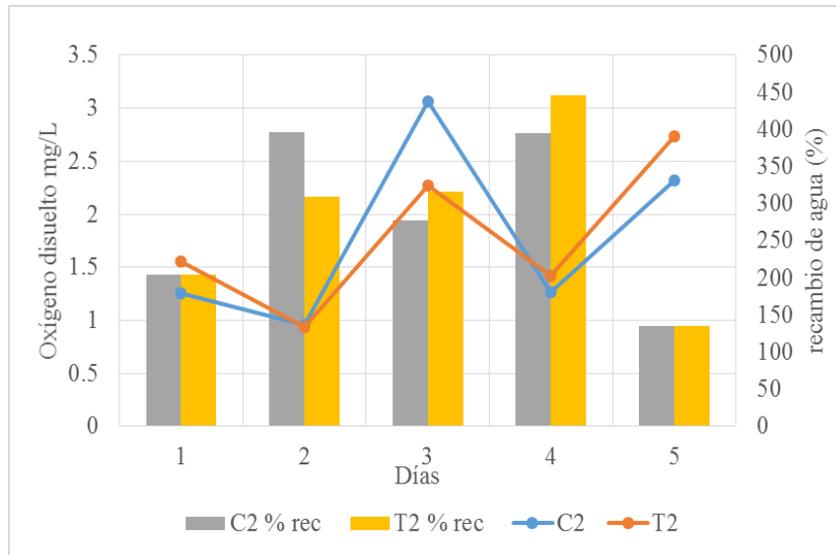
El valor promedio del oxígeno en el T1 y C1 se encontró en un rango de 4.85 – 1.08 mg/L, respectivamente. Al realizar recambios de agua menores del 100% se obtuvo valores letales de oxígeno (< 1mg/L), por lo cual se procedió a realizar un recambio entre el 100 – 250% en cada unidad de experimentación. Pese a la modificación en la metodología, el valor de oxígeno en el agua durante el periodo de prueba se mantuvo por debajo de 5 mg/L, lo que indica fuente de estrés para los organismos (Figura 4).



**Figura 4.** Comportamiento de oxígeno y % de recambio en T1 y C1

En la prueba con el T2 y el C2 el rango se mantuvo en valores de 3.50 – 0.1 mg/L, respectivamente, en este periodo se alcanzaron valores hasta por debajo de 0.5 mg/L durante la noche. Los valores registrados por debajo de 1.0 mg/L se consideran letales para la especie, ya que una concentración menor de 4 mg/L puede provocar letargia, inapetencia, daño en branquias y aumentar la susceptibilidad a enfermedades (Coffigny, 2005).

De la misma manera se respondió a las concentraciones letales del oxígeno elevando el recambio de agua alcanzando hasta 200 – 400%. En la Figura 5 se observa que a una menor concentración de oxígeno corresponde un elevado porcentaje de recambio de agua.



**Figura 5.** Comportamiento de oxígeno y % de recambio en T2 y C2

Las bajas concentraciones de oxígeno reportadas durante la prueba se relacionan a factores tales como alta densidad de siembra, abundancia del fitoplancton, oxidación de materia orgánica, oxidación de material nitrogenado y consumo de oxígeno por el material depositado en el fondo (Sierra, 2011). Ya que un estanque con una alta biomasa presenta fluctuaciones de oxígeno durante la madrugada, debido al aumento del consumo a través de la respiración y es un lapso en el cual fotosíntesis se detiene por lo cual la concentración este parámetro disminuye (Boyd, 1990).

## 7.2 Parámetros de calidad de Agua

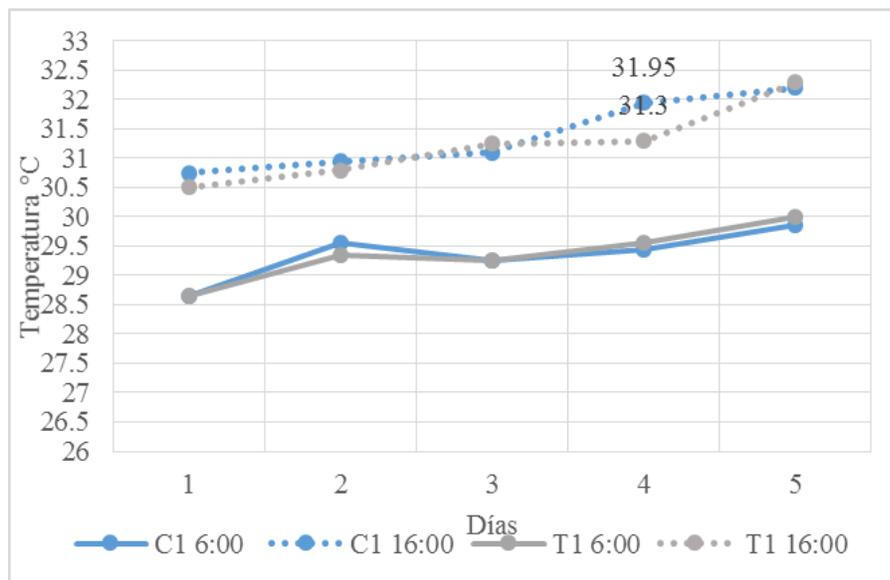
Las variables físicas y químicas medidas (oxígeno disuelto, temperatura, pH,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2$ , TSS no fueron significativas ( $p > 0.05$ ); a excepción de los  $\text{PO}_4\text{-P}$  en el T1 el cual sí presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) según prueba de t-Student.

### 7.2.1 Temperatura

La temperatura en ambas pruebas se encontró entre un rango de  $27.5 - 32.3^\circ\text{C}$ , estos valores se encuentran por encima del óptimo para la especie ya que se obtiene una mayor tasa de crecimiento y mayor digestibilidad del alimento con temperaturas en un rango de  $26 - 30^\circ\text{C}$

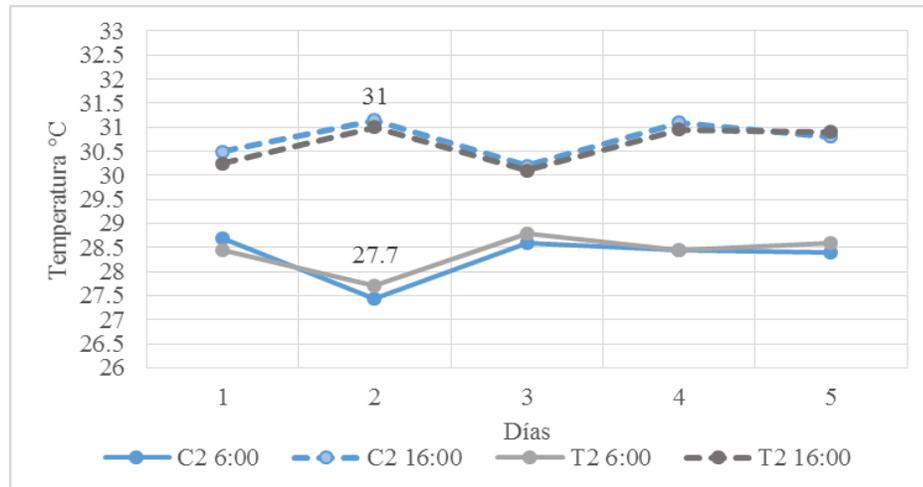
(Azaza, Dhraïef, & Kraïem, 2008; Hessberg, Grajales, & Restrepo, 2012); sin embargo no se obtuvo el valor para el declive en el crecimiento del pez (Santos, Mareco, & Silva, 2013).

Durante la primera prueba se observó un comportamiento ascendente de este parámetro para el T1 con su respectivo control C1, alcanzando un valor máximo de 32.3°C al quinto día de experimento; ambos tratamientos estuvieron muy similares durante los días de prueba (Figura 6).



**Figura 6.** Comportamiento de temperatura en T1 y C1

La temperatura reportada para el T2 y el C2 fueron muy similares entre sí durante el experimento, alcanzando un valor máximo de 31°C (Figura 7). En ambas pruebas los valores máximos se obtuvieron durante horas de la tarde, donde el incremento fue de 1 a 2 °C.

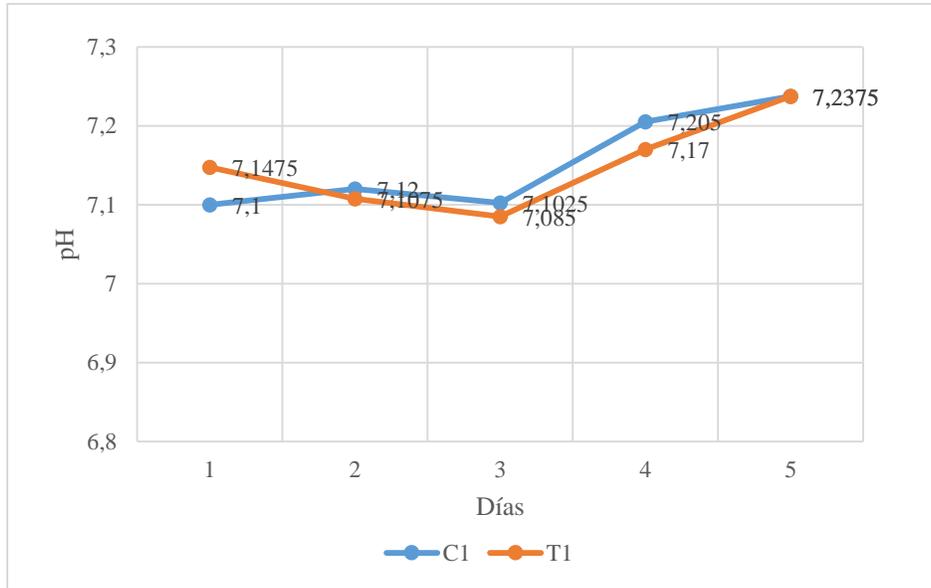


**Figura 7.** Comportamiento de temperatura en T2 y C2

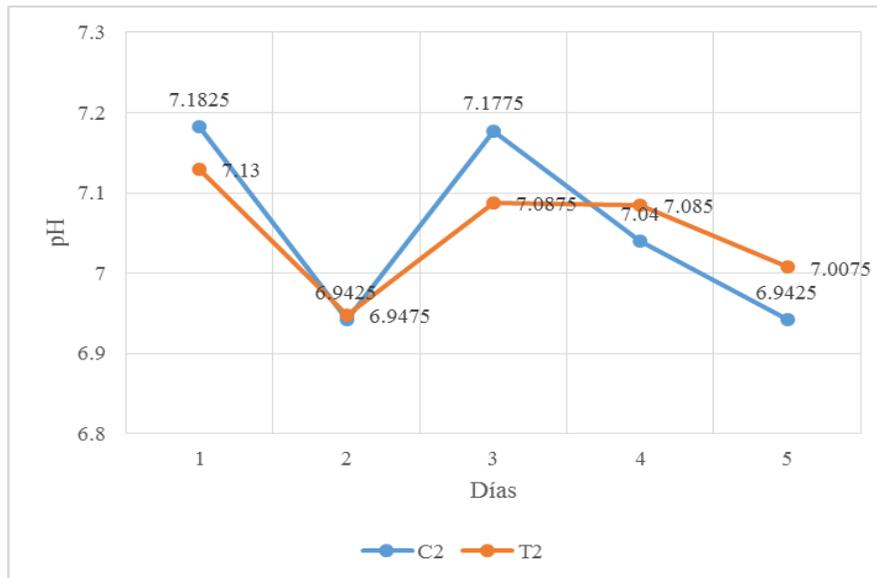
Las temperaturas registradas por encima de 30°C están relacionadas a la radiación solar y la temperatura del aire, así también con la alta concentración de materia orgánica disuelta y particulada, ya que la misma incrementa la absorción de energía solar (Boyd, 1990). Con base a los datos recopilados por el INSIVUMEH (Instituto Nacional de Sismología Vulcanología Meteorología e Hidrología [INSIVUMEH], 2017) para la región, en donde se llevó a cabo esta investigación, se reportaron valores máximos de temperatura promedio entre 28 -32°C durante el mes de agosto y septiembre.

### 7.2.2 Potencial de Hidrógeno (pH)

El pH se encontró entre los valores de 6.94-7.2, los cuales están dentro del parámetro óptimo para cultivo de tilapia, ya que valores por debajo o encima de 6.5-9 generan cambios de comportamiento, letargia, retardo en el crecimiento e inapetencia (Coffigny, 2005). Los datos en el T1 y C1 presentaron una tendencia similar observándose un ligero incremento a partir del día 3, respondiendo al incremento del oxígeno (Figura 8). Para el C2 y el T2 se reportaron disminuciones de este parámetro durante los días de experimentación después del día 4, asociadas al consumo de oxígeno por respiración y descomposición de materia orgánica en el sistema (Figura 9).



**Figura 8.** Comportamiento del pH en C1 y T1



**Figura 9.** Comportamiento del pH en C2 y T2

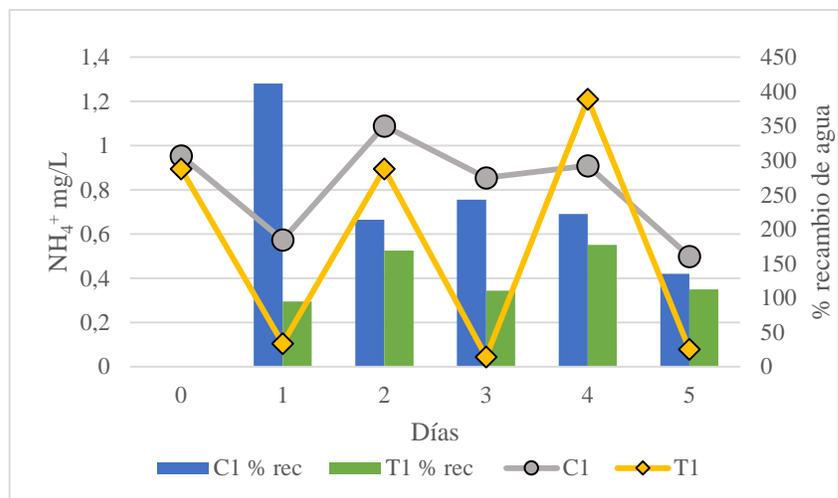
Estudios realizados previamente reportaron que el uso probióticos en estanques acuícolas pueden producir diferentes compuestos orgánicos extracelulares como ácido láctico peróxido de hidrógeno, acetaldehído, diacetilo, bacteriocinas los cuales disminuyen el pH en el medio acuoso debido a sus características hidrofílicas (Melgar, Barba, Álvarez, Tovilla, y Sánchez,

2013). Sin embargo en este caso la fluctuación en el valor de pH depende de factores intrínsecos como la fotosíntesis, respiración y actividades de descomposición de materia orgánica (Universidad de Puerto Rico de Mayagüez [UPRM], s. f.). La disminución de la concentración de oxígeno y el declive en el valor del pH se relacionan con un incremento de CO<sub>2</sub> provocado por la respiración de organismos aeróbicos y la falta de fotosíntesis durante la noche y horas de la madrugada. Un incremento en el CO<sub>2</sub> puede disminuir el pH a un valor por debajo de 6.5, lo que puede llevar a toxicidad de nitrito a través de la formación de ácido nitroso (HNO<sub>2</sub>) (Meyer, 2004).

### 7.2.3 Ion amonio NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

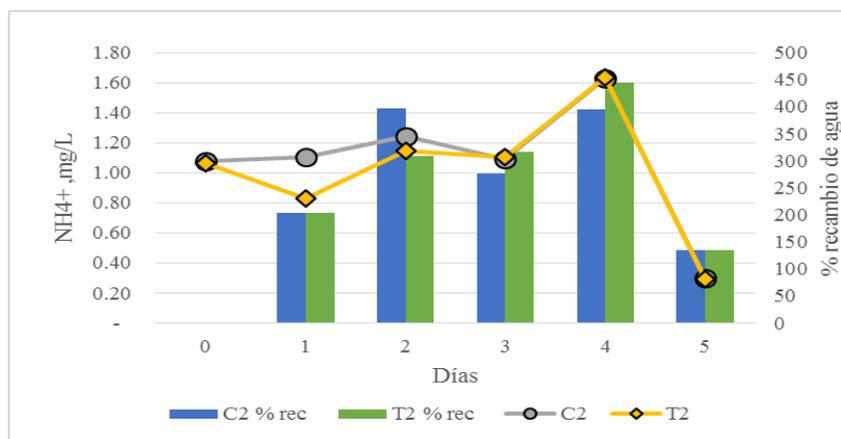
La concentración promedio inicial de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; en los tratamientos y controles fue 1.00 ± 0.2 mg/L; posterior a adicionar las bacteria, los valores se mantuvieron dentro de un rango de 1.08 – 0.54 mg/L, los cuales están cerca de los límites de tolerancia para el cultivo. Se determinó que la exposición mayor de 48 horas a una concentración de 1.00 mg/L de amonio nitrogenado puede ser letal para las larvas de tilapia nilótica (Aysel, & Gulten, 2005). Para ambas pruebas realizadas no se obtuvo tendencia en los datos, lo cual está relacionado a los altos porcentajes de agua utilizados y la baja población de bacterias nitrificantes en el agua.

Con la dosis de 3g/m<sup>3</sup>/ a cada dos días, el valor del NH<sub>4</sub><sup>+</sup> se mantuvo entre 1.21 – 0.05 mg/L. Los días en que se agregó el probiótico en el T1 se alcanzaron concentraciones cercanas a 0.05mg/L, correspondientes al día 1, 3 y 5 de prueba. Sin embargo el incremento del valor durante el día 2 y 4 se debe al elevado recambio de agua (100-250%), la alta concentración de amonio en la fuente de agua y la baja concentración del probiótico. De la misma manera la fluctuación del valor de amonio ocurrida en el C1 se relaciona con el constante recambio de agua (Figura 10).



**Figura 10.** Concentración de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en C1 y T1

Con la dosis de 0.075g/m<sup>3</sup>/día, el comportamiento en la concentración de amonio del T2 y C2 fue similar entre sí, obteniendo un valor promedio de 1.08 y 1.01 mg/L, respectivamente. La similitud en el comportamiento de este parámetro entre el T2 y el C2 se relaciona con la baja dosis de probiótico utilizada en este periodo y el porcentaje de recambio de agua entre 400 – 450%, utilizado para ambos tratamientos (Figura 11).



**Figura 11.** Comportamiento de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en C2 y T2

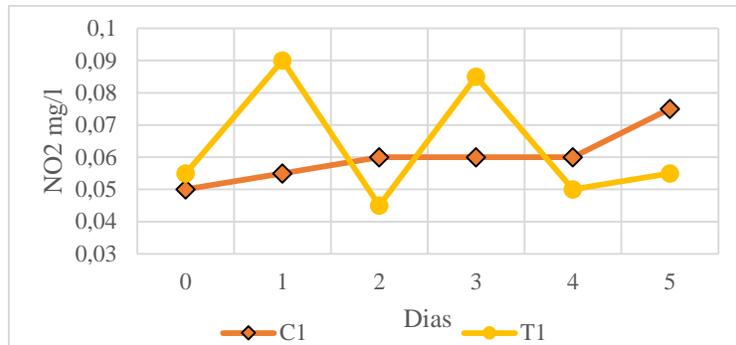
A pesar que en esta investigación la fluctuación en la concentración del amonio se encuentra relacionada con la alta carga de material nitrogenado en el sistema, temperatura, alcalinidad y pH (Paéz & Frías, 2001); otros estudios reportan que el uso de probióticos puede contribuir a la disminución de amonio y demás formas tóxicas del nitrógeno.

Previos estudios han reportado la disminución de nitrógeno amoniacal alcanzando una concentración de 0.2834 mg /L, con una dosis de probióticos (BZT Bio Aqua) 0.06g/m<sup>3</sup>/semana en un sistema de recirculación durante 30 días (Mohamed, Traifalgar, & Serrano, 2013). De igual forma también se reportó la disminución de amonio total utilizando una mezcla de probióticos (bacterias fotosintéticas, lácticas y levaduras) en un cultivo de camarón blanco (Melgar, Barba, Álvarez, Tovilla, y Sánchez, 2013).

#### 7.2.4 Nitritos (NO<sub>2</sub> -)

El nivel promedio de nitritos en todas las piletas se encontró en un rango de 0.90 – 0.40 mg/L, el cual fue óptimo para el desarrollo de la especie, tomando como referencia un nivel aceptable menor de 1 mg/L (Aquafeed, 2012).

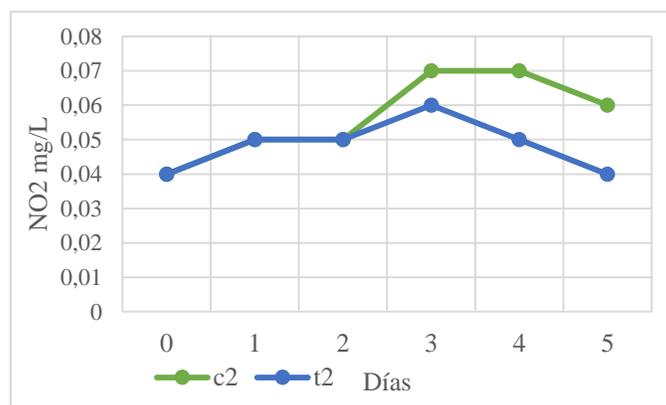
Con la dosis de 3g/m<sup>3</sup>/ a cada dos días, se obtuvo un rango entre 0.063- 0.060 mg/L, el comportamiento de nitritos en el T1 no mostró tendencia. Los puntos de mayor concentración corresponden a los días en que se agregaron los probióticos; el aumento de este parámetro después de la caída del amonio son producto de la oxidación del nitrógeno amoniacal a nitritos (Vatsos, & Angelidis, 2010). Sin embargo se reportó la disminución del valor para el día 2 y 4 del periodo de prueba, lo cual se debe al alto porcentaje de recambio de agua entre 200 – 250% reportado durante esos días (Figura 12).



**Figura 12.** Concentración de nitritos en T1 y C1

Por otra parte se puede observar que en el C1 al cual no se le añadieron probióticos mostró un ligero incremento durante el periodo de evaluación, presumiendo que las bacterias presentes no asimilan el  $\text{NO}_2$  en su totalidad.

Con una dosis de  $0.075\text{g/m}^3/\text{día}$  se observó un ligero aumento de la concentración de nitritos durante los días de experimentación en ambos tratamientos (Figura 13). El comportamiento en el T2 y C2 fue similar durante los primeros 3 días de prueba, sin embargo el T2 mostró una ligera disminución del valor a partir del tercer día, lo cual puede deberse a la aplicación diaria del probiótico, donde las bacterias han asimilado en  $\text{NO}_2$ . De igual forma en otro estudio se reportó una disminución de nitritos al utilizar una dosis de  $0.04\text{ g (BZT BIO AQUA) /m}^3$  hasta alcanzar un nivel de  $0.032\text{ mg/l}$  (Mohamed, Traifalgar, & Serrano, 2013). Por otra parte en el C2 al cual no se le agregaron bacterias se observó tendencia de aumento en la concentración de  $\text{NO}_2$ .



**Figura 13.** Concentración de nitritos en T2 y C2

Como se puede observar en los tratamientos control C1 y C2, a los cuales no se les agregó probiótico, se reportó un leve incremento de la concentración en función del tiempo, esto puede deberse a que en sistemas de producción intensiva, es posible que no se desarrolle una población adecuada de bacterias capaces de transformar el amonio a nitritos (*Nitrobacter*), lo que provoca un incremento de los nitritos en los primeros 20 días (Nicovita, 2003).

Por otra parte en un sistema de recirculación, el nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) es convertido con relativa rapidez y eficiencia a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), a través de bacterias oxidantes de nitrito; sin embargo, esta reacción de oxidación puede ser afectada diversas variables de calidad del agua tales como: pH, alcalinidad, temperatura, oxígeno disuelto, materia orgánica y la exposición a algunos quimioterapéuticos (Mendoza, 2010). Una concentración por debajo o igual de 2 mg/l de  $\text{O}_2^-$ , los nitritos son tóxicos (perjudicial y letal) para muchos peces (Aquafeed, 2017).

Debido a las condiciones de calidad de agua en donde se llevó a cabo esta investigación, se obtuvieron concentraciones por debajo de 1 mg/L de  $\text{O}_2$ , provocadas por las altas densidades de siembra y el alto contenido de material orgánico, es muy probable que este factor influya en la poca actividad de los probióticos, ya que se requiere de 4.57 g de oxígeno disuelto para llevar a cabo el proceso de oxidación del amonio  $\text{NH}_4^+$  hasta nitrato  $\text{NO}_3$ . Por otra parte el proceso de la nitrificación se inhibe en condiciones por debajo de 1 mg/L y un pH por debajo de 6. Las bacterias utilizadas como probióticas mediante el método de nitrificación biológica son obligadamente aerobias y autótrofas que derivan el carbono que necesitan del  $\text{CO}_2$  (Sierra, 2011).

#### 7.2.5 Orto-fosfatos ( $\text{PO}_4\text{-P}$ )

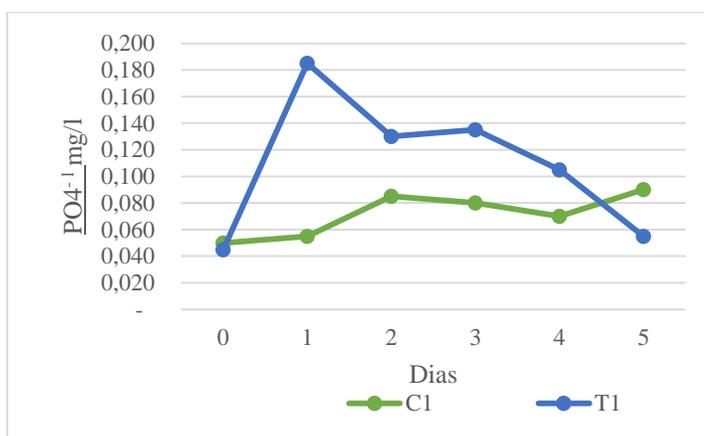
El valor promedio de fosfato durante la prueba se mantuvo con un valor de  $0.09 \pm 0.03$ , encontrándose dentro del rango óptimo para el cultivo de tilapia (Saavedra, 2006). La concentración inicial de  $\text{PO}_4\text{-P}$  en el T1 y C1 fue similar con un valor promedio de 0.05 mg/L. Al incluir los probióticos el valor en el T1 se elevó hasta un valor de 0.20 mg/L, seguidamente

de un declive hasta el día 5, por su parte el C1 al cual no se agregaron bacterias, presentó un ligero aumento hasta el último día de experimento (Figura 14).

De acuerdo al manual de uso de BZT (United Technologies, Inc., USA) se necesita una concentración de fosfatos de entre 0.3 a 0.9 mg/L para mantener el crecimiento del probiótico y un buen nivel de fitoplancton; por lo cual la disminución de ortofosfatos en este experimento, el T1 sugiere que hubo otro consumidor de  $\text{PO}_4\text{-P}$  (Sánchez, Miranda, López, Martínez, Tejeda, & Márquez, 2013).

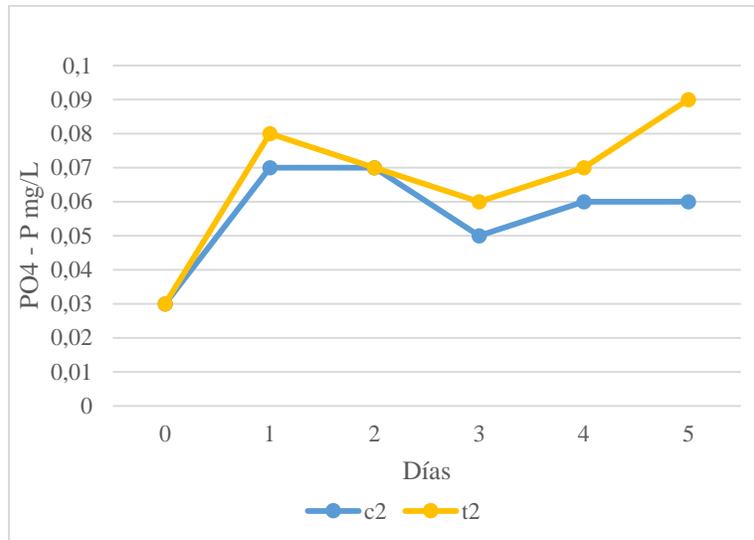
La baja disponibilidad de fosfatos se debe a que los suelos del fondo del estanque absorben fuertemente el fósforo y debido a su insolubilidad, el fósforo sujeto al suelo tiene poca disponibilidad para el fitoplancton (Boyd, 1998).

Por otra parte se han obtenido efectos positivos en la reducción de fosfatos mediante la aplicación de probióticos en cultivos de camarón (Soundarapandian, Ramanan, & Dinakaran, 2010).



**Figura 14.** Comportamientos de  $\text{PO}_4$  en C1 y T1

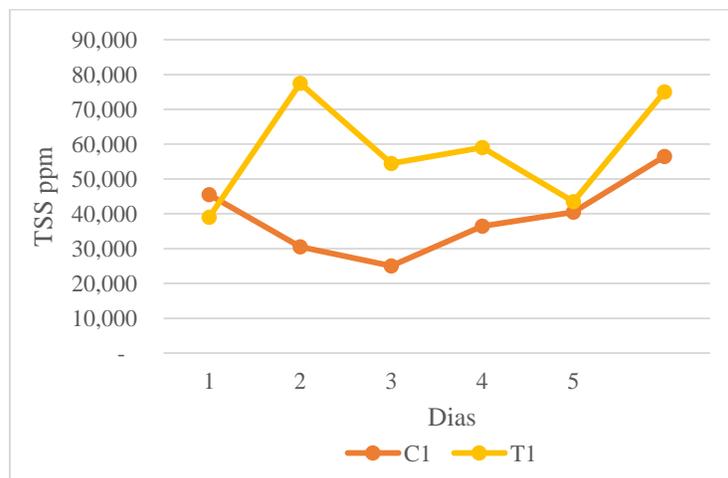
El C1 y ambos tratamientos en la segunda prueba (T2 y C2) mostraron un incremento del valor (Figura 15). Por lo cual se define la baja población bacteriana, provocada por las altas tasas de recambio de agua durante los días de experimento, lo cual inhibe la reducción en la concentración de fosfatos.



**Figura 15.** Comportamiento de PO<sub>4</sub> en C2 y T2

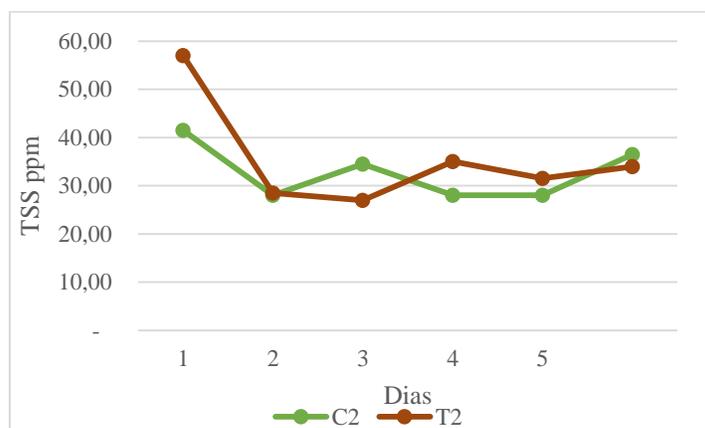
#### 7.2.6 Total de sólidos suspendidos TSS

Para el T1 y el C1, el valor estuvo en un rango de 25 – 77 ppm, el valor del T1 fue mayor que el C1 durante todo el experimento debido a la turbidez del agua provocado por adicionar la melaza como medio de activación para los probióticos (Figura 16).



**Figura 16.** Comportamiento de TSS en C1 y T1

La tendencia de este parámetro en el C2 y T2 fue similar durante todo el experimento, (Figura 17), se observa una disminución de TSS en el día 1 y luego mantenerse constante hasta el quinto día. Ambos tratamientos mostraron un valor promedio de 32.7 y 35.5 ppm, respectivamente debido a la similar tasa de recambio aplicada durante la prueba.



**Figura 17.** Comportamientos de TSS en C2 y T2

### 7.3 Tasa de remoción de amonio $\text{NH}_4^+$

La tasa de remoción de amonio obtenida con la dosis de  $3 \text{ g/m}^3$  a cada dos días, indicó un 88.27 – 93.39% de eficiencia en el T1, lo cual estuvo asociado a la aplicación del probiótico, sin embargo para el C1 se obtuvo una tasa de remoción de amonio de entre 21 – 45% del cual depende del recambio de agua realizado.

Con la dosis de  $0.075 \text{ g/m}^3/\text{día}$ , en el T2 se obtuvo un 21.70% de eficiencia para el primer día del experimento, sin embargo, se observa que durante el día tres no se calculó la TRA debido a que las concentraciones de amonio aumentaron en el sistema.

Se puede observar que al quinto día de experimento en el T2 y C2 se indicó un 80% de eficiencia para ambos, dato que muestra error de medición.

**Tabla 3.** Remoción de amonio  $\text{NH}_4^+$  en mg/l promedio en ambos tratamientos y controles

Día	C1	T1	C2	T2
1	39.79	88.27	❖	21.70
3	21.56	94.97	12.45	❖
5	45.05	93.39	81.60	82.26

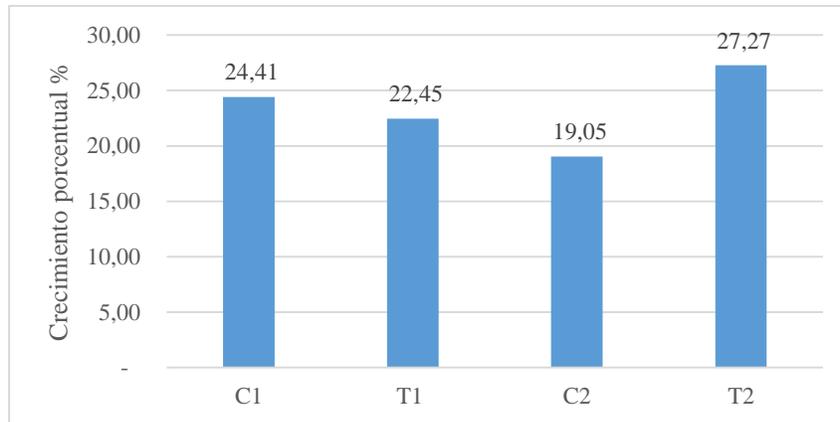
❖ = indica que no hubo remoción de amonio.

La baja tasa de remoción de amonio obtenida en el T2 y la fluctuación durante las pruebas está influenciada a los altos recambios realizados y las bajas concentraciones de oxígeno en el agua, ya que estas condiciones reducen la capacidad del probiótico de incrementarse en número de población y fijarse a un sustrato, lo cual es primordial en el uso de esta tecnología, para generar los procesos de la fijación de nitrógeno, oxidación, nitrificación, desnitrificación y sulfuración (Mai, 2015), la eficiencia del probiótico está relacionada con las condiciones específicas en el ambiente tales como: la concentración de oxígeno disuelto, del cual se requieren niveles por encima de 1 mg/L, temperatura, alcalinidad, pH óptimo para nitrificación entre 7 - 8.5 ya que valores debajo de 6 pueden inhibir el proceso (Constantine, 2008).

#### 7.4 Parámetros zootécnicos

##### 7.4.1 Ganancia en peso porcentual (GP%) y sobrevivencia (S%)

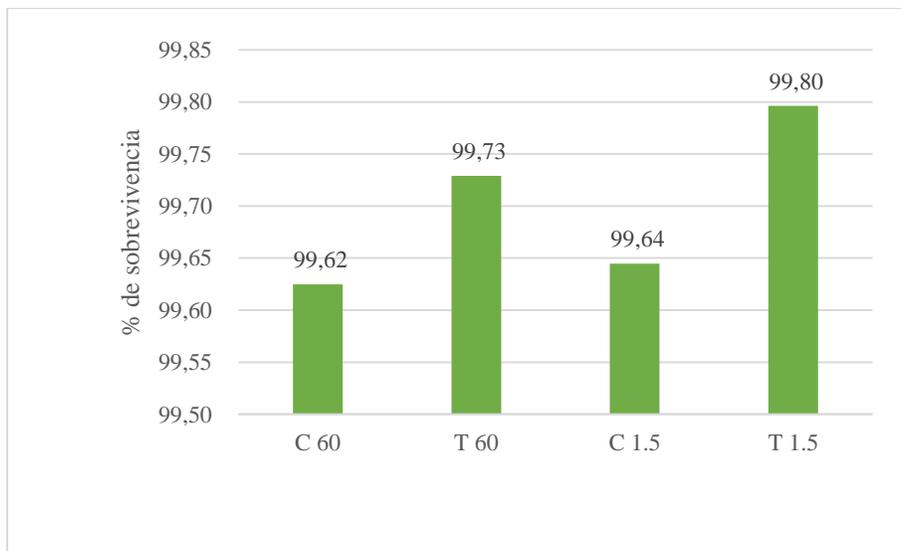
El aumento en el peso para el T1 fue de 22.45% y para el C1 se reportó un 24.41 %, en el T2 y el C2 se reportó un crecimiento porcentual de 27.7% y 19.05%, respectivamente (Figura 18). Los probióticos pueden considerarse como promotores de crecimiento, mejorando el aumento de peso, la tasa de crecimiento específico y la tasa de sobrevivencia (El-Dahhar, et. al., 2014), Este factor puede depender de distintas variables tales como la calidad del agua, manejo del sistema y alimentación. Resultados similares fueron obtenidos con la inclusión de probióticos (BZT BIO AQUA) en un cultivo de alevines de tilapia, alcanzando una ganancia de peso entre el 43 – 45% (Mohamed, Traifalgar, & Serrano, 2013).



**Figura 18.** Crecimiento de larvas para ambas pruebas

#### 7.4.2 Porcentaje de sobrevivencia

El porcentaje de sobrevivencia no presentó diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) para ninguna de las pruebas, en las cuales se obtuvieron valores mayor a 99.0% (Figura 19).



**Figura 19.** Tasa de sobrevivencia en ambas pruebas

Se puede observar que la sobrevivencia fue ligeramente mayor en los tratamientos a los cuales se les agregaron bacterias, lo cual coincide con los resultados obtenidos con la aplicación de *Rhodopseudomonas palustris* Gram (-) con la cual se obtuvo un mejor

crecimiento y una mayor tasa de sobrevivencia en un cultivo de alevines de tilapia (Khatun, & Saha, 2017). Por otra parte, el porcentaje de sobrevivencia en un cultivo de producción intensiva de larvas, se caracteriza por generar altos porcentajes de materia orgánica, los cuales se acumulan en el fondo del estanque como sedimento, creando ambientes propicios para la proliferación de ectoparásitos, lo cual puede ocasionar altas mortalidades a la población (Gonzalez, 2012).

## 8. Conclusiones

- La relación entre la actividad del probiótico y el recambio de agua mayor al 100% indicó la baja incidencia y fijación de bacterias necesarias para la nitrificación.
- El uso del probiótico en el sistema no demostró reducción de los parámetros de interés en la calidad de agua, debido a la concentración subletal de oxígeno presentada durante el periodo de evaluación; lo cual reduce la capacidad de nitrificación.
- La mejor tasa de remoción de amonio se obtuvo con el T1 (3g BZT/m<sup>3</sup> a cada dos días), entre el 80 – 90%; con el T2 (0.075 g/m<sup>3</sup>/día) se obtuvo una remoción de amonio de 21-45% lo cual fué provocado por la baja dosis utilizada y el constante recambio de agua.
- La adición de probióticos BZT al agua de cultivo no generó diferencia significativa entre las variables de calidad de agua y/o parámetros zootécnicos.
- El probiótico añadido al agua de cultivo no tuvo relación sobre el valor de tasa de sobrevivencia (S%) y la ganancia en peso porcentual (GP) para ninguna de las dos dosis utilizadas en la investigación.

## 9. Recomendaciones

- Disminuir las tasas de recambio de agua puede incrementar el tiempo de retención del producto y generar el sustrato preciso para incrementar la población de bacterias probióticas; por lo tanto, es necesario mejorar las condiciones de oxigenación en el sistema de producción, a fin de obtener las concentraciones de oxígeno disuelto necesarias para llevar a cabo el proceso de nitrificación y obtener una mayor tasa de remoción del amonio.
- Ajustar la biomasa de peces por m<sup>3</sup> de agua, en las piletas de acuerdo a la capacidad de oxigenación y recambio de agua en el sistema.
- Es necesario mejorar la oxigenación en la fuente de agua que abastece al sistema, a fin de mejorar la calidad del afluente y generar condiciones óptimas para el crecimiento de bacterias nitrificantes.
- Ajustar la ración alimenticia, para reducir la acumulación de materia orgánica en descomposición y mejorar a su vez los parámetros de sobrevivencia y crecimiento en el cultivo.
- Se recomienda utilizar la dosis de 3g BZT/m<sup>3</sup> a cada dos días, disminuyendo la tasa de recambio de agua e incrementando la concentración de oxígeno en el agua.
- Se recomienda el uso de probióticos como medio de eliminación de amoníaco en sistemas de producción intensiva, ajustando la dosis y la frecuencia a la capacidad de oxigenación y nitrificación de cada sistema.

## 10. Bibliografía

- Aly, H., Abdel, M., Lotfy, M., Abdelaty, B., & Sallam R. (2016). The applicability of activated carbon, natural zeolites, and probiotics (EM®) and its effects on ammonia removal efficiency and fry performance of European seabass *Dicentrarchus labrax*. *J Aquac Res Development*, 7 (11), 1-8.
- Aquafeed. (2017). *Monitoreo de la calidad de agua del estanque para mejorar la producción de camarones y peces* [en línea]. Recuperado enero, 7, 2018, de <http://www.aquafeed.co/monitoreo-de-la-calidad-de-agua-del-estanque-para-mejorar-la-produccion-de-camarones-y-peces/>
- Arredondo, J., y Palafox, J. (1996). *Calidad del agua en acuicultura*. México: AGT Editor.
- Azaza, M., Dhraïef, M., & Kraïem, M. (2018). Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. *Journal of Thermal Biology*, 33 (2), 98-105.
- Aysel, K., y Gulden, K. (2005). The acute toxicity of ammonia on tilapia *Oreochromis niloticus* larvae and fingerlings. *Turk J Vet. Anim. Sci*, 29 (2005), 339-344.
- Balca'zar, J., Blas, I. de, Ruiz, I., Cunningham, D., Vendrell, D., & Mu'zquiz, J. (2006). The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*, 114 (2006), 173-186.
- Boyd, C., Hollerman, W., Plumb, J., y Saeed, M. (1984). Effect of treatment with a commercial bacterial suspension on water quality in channel catfish ponds. *The Progressive Fish-Culturist*, 46 (1), 36-40.
- Boyd, C. (1990). *Waters quality in ponds of aquaculture*. United States: Auburn University.



- Boyd, C. (2001). *Consideraciones sobre la calidad del agua y del suelo en cultivos de camarón*. Estados Unidos de América: Department of Fisheries and Allied Aquacultures.
- Constantine, T. (2008). *An overview of ammonia and nitrogen removal in wastewater treatment* [en línea]. Recuperado enero 09, 2018, de [https://weao.memberclicks.net/assets/docs/new-professionals/timconstantine\\_nitrification\\_and\\_removal.pdf](https://weao.memberclicks.net/assets/docs/new-professionals/timconstantine_nitrification_and_removal.pdf)
- Coffigny, R. (2005). *Índices hematológicos y celulares como bioindicadores de estrés en Oreochromis aureus Steindachner (tilapia) de cultivo*. Tesis Doctor en Ciencias. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
- El-Dahhar, A., El-ebiary, E., Abdel-Rahim, M., & Lotfy, A. (2014). Effect of probiotic added to water and feed on water quality, growth performance, survival and bacterial load of gilthead sea bream, (*Sparus Aurata*) larvae in El-Max Research Station. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*, 9 (2), 247-264
- Francis , R., Watson, C., y Pouder , D. (2015). *Ammonia in aquatic systems* [en línea]. Recuperado febrero, 27, 2016, de [https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FA/FA\\_03100.pdf](https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FA/FA_03100.pdf)
- García, B., Hernández Y., Urquín<sup>1</sup>, Álvarez, C., Martínez, A., Contrera, W., Civera R., y Nolasco, H. (2013). Pasta de coco en dietas prácticas para juveniles de tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.) (Percoidei: Cichlidae). *Acta Agrícola y Pecuaria*, 1 (1), 43-50.
- Gonzalez, J. (2012). Parasitofauna en tilapia causante de mortalidad en alevinos en dos centros de cultivos, Lima, Perú. *Neotropical Helminthology*, 6 (2), 219 - 229.
- Gutiérrez, S., Monroy, M., Handam, A., Mejía, J., & Rodríguez, G. (2016). Effect of two carbon sources in microbial abundance in a Biofloc culture system with *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4 (3), 421-427.
- Guzmán, C. (2012). *Caracterización de la acuicultura en el departamento de Petén, Guatemala*. Tesis Licenciado en Acuicultura. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala [USAC].



- Hessberg, C., Grajales, A., y Restrepo, M. (2012). Monografía de protocolos para obtener poblaciones monosexo de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*; Trew. 1983). *Boletín Científico Centro de Museos, Museo de Historia Natural*, 16 (1), 156 - 172.
- Ingle, G. (2003). Evaluación de algunos parámetros de calidad del agua en un sistema cerrado de recirculación para la acuicultura, sometido a diferentes cargas de biomasa de peces. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 13 (4), 247-253.
- Instituto Nacional de Sismología Vulcanología Meteorología e Hidrología [INSIVUMEH]. (2017). *Informes climáticos mensuales (agosto-septiembre)* [en línea]. Recuperado enero, 02, 2018, de [http://www.insivumeh.gob.gt/meteorologia/climaticos/climatico\\_m\\_01102017.pdf](http://www.insivumeh.gob.gt/meteorologia/climaticos/climatico_m_01102017.pdf)
- Irianto, A., & Austin, B. (2002). Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*. 25 (11), 633-642.
- Janeo, J., Corre V., & Sakata, T. (2009). Water quality and phytoplankton stability in response to application frequency of bioaugmentation agent in shrimp ponds. *Aquacultural Engineering*, 40 (2009), 120-125.
- Jiménez, F. (2004). *Los organismos acuáticos y su medio ambiente*. Mexico: Universidad Autonoma de Nuevo León.
- Jian-yu, X., Xiang-wen, M., Ying, & Shao-rong, C. (2005). Behavioral response of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to acute ammonia stress monitored by computer vision. *Journal of Zhejiang University Science B*, 6 (8), 812-816.
- Kaushik, S. (2000). Factores que afectan la excreción nitrogenada en teleósteos y crustáceos [en línea]. Recuperado febrero 28, 2017, de [http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion\\_acuicola/IV/archivos/15kaushi.pdf](http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/IV/archivos/15kaushi.pdf)
- Khatun, M. S., & Saha, S. B. (2017). Effect of different probiotics on growth, survival and production of monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5 (1), 346-351.
- Kroupova, H., Machova, J., y Svobodova, Z. (2005). Nitrite influence on fish: A review. *Veterinarni Medicina-PRAHA*, 50 (11), 461.



- Meyer, D. (2004). *Introducción a la Acuicultura* [en línea]. Recuperado enero, 4, 2018, de [http://pdacrsp.oregonstate.edu/pubs/featured\\_titles/Introduccion%20Acuicultura.pdf](http://pdacrsp.oregonstate.edu/pubs/featured_titles/Introduccion%20Acuicultura.pdf)
- Maid, I. (2015). Evolution of probiotics in aquatic world: Potential effects, the current status in Egypt and recent prospective. *Review Journal of Advanced*, 6, 765-791.
- Melgar, C., Barba, E., Álvarez, C., Tovilla, C., y Sánchez, A. (2013). Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) en cultivo intensivo. *Revista Biología Tropical*, 61 (3), 1215-1228.
- Mendoza, O. (2010). *Utilización de bacterias nitrificantes como biorremediadoras del agua de cultivo de Litopenaeus vannamei en Tumbes, Perú*. Tesis Doctor en Biotecnología. Perú: Universidad Internacional de Andalucía.
- Mohamed, A., Traifalgar, R., & Serrano, A. (2013). Assessment of probiotic application on natural food, water quality and growth performance of saline tilapia *Oreochromis mossambicus* L. cultured in concrete tanks. *Fisheries and Aquaculture*, 2013 (75), 1-7.
- McDermand, L. (2013). *La comprensión del amoníaco en los estanques acuícolas* [en línea]. Recuperado mayo, 7, 2017, de <http://www.aquafeed.co/la-compresion-del-amoniacoen-los-estanques-acuicolas/>
- Nicovita. (2003). Nitritos en estanques de cultivo intensivo de camarón [en línea]. *Boletín Nicovita*, 8 (1). Recuperado enero, 8, 2018, de [http://www.nicovita.com/extranet/Boletines/abr\\_jun\\_2003\\_01.pdf](http://www.nicovita.com/extranet/Boletines/abr_jun_2003_01.pdf)
- Otero, I., & Hoyos, J. (2016). Determinación del potencial probiótico de bacterias ácido lácticas autóctonas de sistemas de producción piscícola. *Agronomía Colombiana*, 34 (1), 819-821.
- Paéz, F., & Frías, M. (2001). Toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones [en línea]. Recuperado enero, 8, 2018, de <http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Camaron/Toxicidad%20de%20los%20compuestos%20del%20nitrogeno%20en%20camarones.pdf>



- Padmavathi, P., Sunitha, K., & Veeraiyah, K. (2012). Efficacy of probiotics in improving water quality and bacterial flora in fish ponds. *African Journal of Microbiology Research*, 6 (49), 7471-7478.
- Sánchez, A., Miranda, A., López, J., Martínez, L., Tejada, A., y Márquez, E. (2013). Efecto del fotoperíodo y la razón camarón: Macroalga en la remoción de nitrógeno amoniacal total por *Gracilaria vermiculophylla*, en cultivo con *Litopenaeus vannamei*, sin recambio de agua. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41 (5), 88-97.
- Santos, G. (2013). *El papel de la biorremediación en el manejo de la calidad del agua* [en línea]. Recuperado marzo 22, 2017, de <http://www.aquafeed.co/el-papel-de-la-biorremediacion-en-el-manejo-de-la-calidad-del-agua/>
- Santos, V., Mareco, E., & Silva, M. (2013). Growth curves of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains cultivated at different temperatures. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 35 (3), 235-242.
- Saavedra, M. (2006). *Manejo del cultivo de tilapia* [en línea]. Recuperado enero 9, 2018, de <http://www.crc.uri.edu/download/MANEJO-DEL-CULTIVO-DE-TILAPIA-CIDEA.pdf>
- Salama, N., Ghanim, N., Abada, A., y Sherif, A. (2015). Effect of un-ionized ammonia (NH<sub>3</sub>) on *Oreochromis niloticus* physiological status with a probiotic treatment trial. *International Journal of Science and Research [IJSR]*, 5 (8), 1907-1915.
- Sayes, C., Leyton, Y., y Riquelme, C. (2016). Bacteria *Pseudoaltermonas* sp. con potencial probiótico para cultivos larvales de peces. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44 (1), 76-84.
- Schreier, H. J., Mirzoyan, N., & Saito, K. (2010). Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems. *Current Opinion in Biotechnology*, 21 (3), 318-325.
- Sergean, C. (2014). *The management of ammonia levels in an aquaculture environment* [en línea]. Recuperado febrero 28, 2016, de <https://www.pollutionsolutions>



online.com/articles/waterwastewater/17/chris\_serjeant/the\_management\_of\_amm  
onia\_levels\_in\_an\_aquaculture\_environment/1557/.

- Secretaría de Planificación y Programación de la Presidencia [SEGEPLAN]. (2010). *Plan de desarrollo Municipal San Luis, Petén*. Guatemala: Autor.
- Sierra, C. (2011). *Calidad del agua: Evaluación y diagnóstico*. Medellín, Colombia: Ediciones de la U.
- Soundarapandian, P., Ramanan V., & Dinakaran, G. (2010). Effect of probiotics on the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius). *Current Research Journal of Social Sciences*, 2 (2),51-57.
- Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, F., Román, L., Acosta, B., y Valcárcel, F. (2009). Uso de probióticos en Acuicultura. *Revista Canaria de las Ciencias Veterinarias*, 6 (7), 51-54.
- Torres, B. (2005). *Organic matter decomposition in simulated aquaculture ponds*. Tesis Magister in Science. Holanda: Wageningen Institute of Animal Science.
- Universidad de Puerto Rico de Mayagüez [UPRM]. (s. f.). *Parámetros fisicoquímicos: pH* [en línea]. Recuperado enero 4, 2018, de <https://www.uprm.edu/biology/profs/massol/manual/p2-ph.pdf>
- Vatsos, I., & Angelidis, P. (2010). Water quality and fish diseases. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 61 (1), 40-48.
- Ziaei, S., Rezaei, M., Takami, G., Lovett, D., Mirvaghefi, A., y Shakouri, M. (2006). The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252 (2), 516-524.



## **11.Anexo**



NO.

BOLETA TOMA DE DATOS -CALIDAD DE AGUA-  
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN EPS 2017

Fecha	
Hora toma muestra	
Hora del análisis	

Estanque	OD mg/L	OD % Sat	T°C	pH	TAN	TSS	P04	NO2

NO.

BOLETA TOMA DE DATOS -CALIDAD DE AGUA-  
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN EPS 2017

Fecha	
Hora toma muestra	
Hora del análisis	

Estanque	OD mg/L	OD % Sat	T°C	pH	TAN	TSS	P04	NO2

Anexo2. Boleta de registro datos de parámetros físico-químicos