



Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

ISSN: 0120-2952

ISSN: 2357-3813

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia  
Universidad Nacional de Colombia

Collazos-Lasso, L. F.; Ueno-Fukura, M.; (Q.E.P.D.), Y.  
Jiménez-Moreno; Suárez-Contento, L.; Aya-Baquero, E.

Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton

Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia,  
vol. 69, núm. 3, 2022, Septiembre-Diciembre, pp. 281-298

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia

DOI: <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.99968>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407674151006>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

## Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton

L. F. Collazos-Lasso<sup>1</sup>, M. Ueno-Fukura<sup>2</sup>, Y. Jiménez-Moreno (Q.E.P.D.)<sup>3</sup>, L. Suárez-Contento<sup>4</sup>, E. Aya-Baquero<sup>5</sup>

Recibido: 06/12/2021. Aprobado: 07/05/2022

### RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue establecer el biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno (C/N): 10/1, 15/1 y 20/1, determinando la secuencia de remoción de N, el perfil de sólidos y la caracterización del zooplancton, para tal fin se dispuso de tres tanques con volumen de 7000 L, incorporando oxígeno al agua a través de un aireador tipo soplador. Se utilizó como fuente de N balanceado, fuente de carbono melaza y bicarbonato de sodio como fuente alcalinizante. Al inicio se incrementó el nitrógeno amoniacal total NAT a 2 mg/L, la alcalinidad total (AT) a 120 mg/L y se adicionó como inóculo 10 litros/tanque de agua proveniente de un estanque de cultivo, al sexto y décimo días se adicionó balanceado incrementando teóricamente el NAT en 4 mg/L y a partir del día 12 en 1 mg/L. En las tres relaciones C/N se evidenciaron procesos de nitrificación durante la estabilización del biofloc, hasta llegar en el tiempo a concentraciones no letales de amonio y nitrito para peces, menores a 1 mg/L. En cuanto a los sólidos volátiles, se encontró una mayor concentración en la relación 20/1, lo cual puede atribuirse a la mayor adición de melaza, con la consecuente producción de SSV a partir de la dominancia de comunidades heterotróficas, en los tres macrocosmos se presentaron comunidades del zooplancton, no obstante, el T2 presentaron la mayor abundancia y riqueza de organismos. Las tres relaciones C/N en biofloc establecieron condiciones de calidad de agua y alimento vivo.

**Palabras clave:** biofloc, sólidos, establecimiento, zooplancton, amonio.

<sup>1</sup> Grupo de investigación IALL, Instituto de acuicultura de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales FCARN, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, sede Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

Correo electrónico: lcollazos@unillanos.edu.co.

<sup>2</sup> Grupo de investigación IALL, Instituto de acuicultura de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales FCARN, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, sede Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

Correo electrónico: ufukura@unillanos.edu.co.

<sup>3</sup> Grupo de investigación Biorinoquía, programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, vereda Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

<sup>4</sup> Grupo de investigación IALL, Instituto de acuicultura de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales FCARN, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, sede Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

Correo electrónico: laura.suarez@unillanos.edu.co.

<sup>5</sup> Grupo de investigación Biorinoquía, programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, vereda Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

Correo electrónico: elizabeth.aya@unillanos.edu.co.

## Establishment of biofloc at three carbon/nitrogen ratios, tending to the production of zooplankton

### **ABSTRACT**

The objective of this research was to establish the biofloc at three carbon/nitrogen (C/N) relationships: 10/1, 15/1 and 20/1, determining the N removal sequence, the solids profile and the characterization of the zooplankton, for this purpose three tanks with a volume of 7000 L were available, incorporating oxygen into the water through a blower-type aerator. It was used as a source of balanced N, a source of carbon molasses and sodium bicarbonate as an alkalinizing source. At the beginning, the total ammoniacal nitrogen NAT was increased to 2 mg/L, the total alkalinity (AT) to 120 mg/L and 10 liters / tank of water from a culture pond was added as inoculum, on the sixth and tenth days it was he added balanced, theoretically increasing the NAT by 4 mg/L and from day 12 by 1 mg/L. In the three C / N relationships, nitrification processes were evidenced during the stabilization of the biofloc, until reaching non-lethal concentrations of ammonium and nitrite for fish, less than 1 mg/L in time. Regarding volatile solids, a higher concentration was found in the 20/1 ratio, which can be attributed to the greater addition of molasses, with the consequent production of SSV from the dominance of heterotrophic communities, in the three macrocosms there were Zooplankton communities, however, T2 presented the highest abundance and richness of organisms. The three C / N relationships in biofloc established conditions of water quality and live food.

**Keywords:** biofloc, solids, establishment, zooplankton, ammonium.

### **INTRODUCCIÓN**

La aplicación de la tecnología biofloc en piscicultura se establece como un sistema intensivo de cultivo con menores impactos, con lo cual se logra mantener los parámetros de calidad de agua dentro de rangos adecuados para el cultivo a partir del reciclaje de nutrientes, en especial los compuestos nitrogenados (en especial del  $\text{NH}_3$  y  $\text{NO}_2^-$ ) a través de la asimilación y oxidación del N por microorganismos aerobios con actividades autotróficas y heterotróficas (Ebeling *et al.* 2006), a una alta relación C/N y oxigenación en saturación, lo que resuelve los problemas de exceso de nutrientes en la producción (Collazos–Lasso y Arias–Castellanos 2015; Avnimelech 2015), siendo un sistema que incorpora conocimientos disímiles, multidisciplinarios y constituye una forma

diferente de la producción en confinamiento de especies acuáticas.

El inicio y estabilización del sistema es esencial, pues de esto depende el éxito del cultivo, los conceptos de diferentes autores de manera general son similares (Crab *et al.* 2010; Ekasari *et al.* 2015; Fauji *et al.* 2018; García–Ríos *et al.* 2019; Li *et al.* 2018), aportes de N al agua (De Schryver *et al.* 2008), de C (Avnimelech 2009), condiciones de calidad de agua (Emerenciano *et al.* 2017) en medio aerobio y adición de inóculo (Martins *et al.* 2020; Crab *et al.* 2010).

No obstante, surgen singularidades en cada proceso, por ejemplo, Crab *et al.* (2010) reportan una concentración de 25 mg/L de NAT para dar inicio al sistema a una relación C/N de 10; otros estudios presentan  $\text{NH}_4\text{Cl}$  como aporte de N para

el inicio biofloc a una concentración de 2 mg/L, usando como fuente de carbono harina de tapioca a una relación C/N de 10 (Gomes Vilani *et al.* 2016; Fauji *et al.* 2018).

Otro factor es el inóculo con el que dan inicio al sistema, esta condición básicamente puede referirse al uso de microrganismos comerciales, o a potenciar los microorganismos presentes en el agua proveniente de otro sistema de cultivo (sistemas de recirculación en acuicultura –RAS–, estanques en tierra, filtros, biofloc, entre otros). En este sentido, Crab *et al.* (2010) reportaron el lodo de un filtro de tambor como inóculo para el inicio de un cultivo en biofloc.

Fauji *et al.* (2018) adicionan probióticos comerciales que contienen *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*; otros autores reportan inóculo con agua de cultivo de diatomeas *Chaetoceros muelleri* (Gomes Vilani *et al.* 2016); Martins *et al.* (2020) evalúan el uso como inóculo de agua proveniente de sistemas biofloc maduros con procesos de nitrificación establecidos. En esta dirección, Miranda-Baeza *et al.* (2019) sugieren que los conglomerados provenientes de biofloc contienen comunidades bacterianas bien establecidas, lo cual hace difícil que sean modificadas por la adición de probióticos.

La dominancia de microorganismos en el biofloc es asociada a las relaciones C/N, lo cual sugiere que una alta proporción da condiciones de mayor biodisponibilidad de carbono orgánico, promoviendo la remoción de N por microorganismos y vías heterótrofas (Avnimelech 2009). Dado que los procesos de oxidación del N pueden estar asociados a menores relaciones C/N con la participación de microorganismos autótrofos (Ebeling *et al.* 2006), estudios realizados por Bakar *et al.* (2015) establecen la reducción del N a diferentes relaciones

C/N de 10, 15, 20, 25 y 30/1, siendo que, a mayor C/N, menores fueron los procesos de nitrificación.

Por otra parte, las relaciones C/N presentan diferencias en la conformación orgánica del biofloc, estando relacionadas proporcionalmente con un mayor aporte de carbono orgánico al sistema (Martins *et al.* 2020). De esta manera, las vías heterótrofas tienen como producto una mayor producción de sólidos en suspensión volátiles (SSV) (Ebeling *et al.* 2006; Xu *et al.* 2016), generando condiciones particulares en la conformación de los eslabones superiores (organismos del zooplancton) de la red trófica (Hernández *et al.* 2017; Ray *et al.* 2010), donde se reportan organismos como: microalgas, protistas (ciliados), rotíferos, cladóceros y copépodos (Ayazo-Genes *et al.* 2019; Betancur Gonzales *et al.* 2016; Castro-Mejía *et al.* 2017; Monroy-Dosta *et al.* 2013; Lima 2017).

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de esta investigación fue establecer la secuencia de remoción de N, el perfil de sólidos y la caracterización del zooplancton durante el establecimiento del biofloc a tres relaciones C/N.

## METODOLOGÍA

Los experimentos de estabilización de biofloc a tres relaciones C/N se realizaron en la unidad de experimentación con BFT del Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos, adscrito a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad de los Llanos, Colombia (4°04'30"N 73°35'07"O).

## Comité de ética

La investigación contó con el concepto técnico favorable del comité de bioética (acta 07 de 2019) de la Dirección General

de Investigaciones de la Universidad de los Llanos. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la “Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio” del Consejo Nacional de Investigación de Estados Unidos y la “Política sobre el cuidado y uso humanitarios de animales de laboratorio” del Servicio de Salud Pública de Estados Unidos.

### **Establecimiento del biofloc**

Se utilizaron tres tanques circulares de 3 m de diámetro con un volumen útil de 7.000 L, recubiertos con una bolsa de geomembrana HDPE, protegidos por un domo o cúpula en polietileno de baja densidad con transparencia del 90% para regular temperatura, entrada de luz y agua lluvia, la incorporación de oxígeno al agua se hizo a través de un aireador tipo soplador (1 HP), usando como difusor manguera microporosa.

Cada tanque se llenó con 7.000 L de agua dulce, regulando los parámetros de calidad de agua bajo las siguientes restricciones experimentales: temperatura T = 26 – 28° C; oxígeno disuelto (OD) > 5 mg/L, saturación de oxígeno (SO) > 60%, pH = 7,5 – 8,5 y alcalinidad total (AT) = 80 – 130 mg CaCO<sub>3</sub>/L; posteriormente se procedió al establecimiento y estabilización del biofloc, teniendo en cuenta los planteamientos descritos por De Schryver *et al.* (2008) y Avnimelech (2009), manejando tres relaciones C/N, así: tanque 1 a una relación C/N=10/1; tanque 2 de 15/1 y tanque 3 de 20/1, como fuente de N se utilizó alimento balanceado con un nivel de proteína del 32% (humedad del 13 %), como fuente de carbono melaza (33,65% de carbono orgánico total), como fuente alcalinizante: bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>), del cual el 98,59% del tamaño de partícula es menor a 0,355 mm.

La cantidad de alimento que se adicionó en los tres tratamientos para incrementar teóricamente la concentración del nitrógeno amoniaco total (NAT) se determinó a partir de la siguiente ecuación:

$$A \text{ (g)} = \frac{(NAT/1000) \times Vol}{\% PB \times 0.155^* \times 0.87}$$

Donde, A: cantidad de alimento (g); NAT: nitrógeno amoniaco total (deseado); Vol= volumen de agua (L); % PB: % de proteína bruta del alimento; 0,155: % de nitrógeno presente en la PB (Avnimelech 2015); 0,87: % de materia seca del alimento; \* no se tuvo en cuenta el 0,75 planteado en De Schryver *et al.* (2008) correspondiente al porcentaje de excreción de amonio (NH<sub>3</sub>) porque no hay peces.

Para calcular la cantidad de carbono orgánico (melaza), se tuvo en cuenta la relación C/N propia del alimento, la relación C/N correspondiente a cada tratamiento y el % de carbono orgánico total de la fuente, como se describe a continuación:

$$C / NAT \leftrightarrow (A \times 0,5 \times 0,87) / (A \times PB \times 0,155 \times 0,87); \text{ donde:}$$

C: cantidad de carbono en el alimento y 0,5: el % de carbono en el alimento (Avnimelech 2009)

Teniendo en cuenta lo anterior, para el primer día se incrementó teóricamente el NAT a 2 mg/L según lo reportado por Fauji *et al.* (2018) y Gomes Vilani *et al.* (2016), para lo cual se adicionó 324 g de alimento con el 32% PB a cada tanque (7.000 L), y para regular la relación C/N de los tres tratamientos, se adicionó melaza en las siguientes cantidades; T1 (10/1) = 0 g, T2 (15/1) = 205 g y T3 (20/1) = 413 g a cada tanque (7.000 L).

Al segundo día, como inóculo, se adicionó a cada tanque 10 litros de agua proveniente de un estanque de cultivo de cachama blanca en tierra; al sexto y décimo

día se adicionó, nuevamente, alimento y melaza en las cantidades necesarias para subir teóricamente el NAT a 4 mg/L, conservando las relaciones C/N de cada tratamiento y manteniendo la alcalinidad en los rangos establecidos; y desde el día doce hasta el día sesenta (fin de experimento) se adicionó alimento calculado para incrementar de manera teórica 1 mg/L de NAT, conservando las relaciones C/N de los tratamientos; el tiempo de evaluación se determinó cuando los compuestos nitrogenados  $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  presentes en el agua estuvieron dentro de rangos no tóxicos para especies ícticas de agua dulce (Jiménez-Ojeda *et al.* 2018) y se observaron comunidades asociadas al plancton.

### **Seguimiento de los parámetros de calidad de agua**

Durante el establecimiento y la estabilización del biofloc, se registraron mediciones y registros de la calidad del agua en los tres tanques de biofloc bajo las siguientes consideraciones: una vez al día se determinaron las concentraciones de nitrógeno amoniacal total NAT = ( $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$  mg/L), nitrito ( $\text{NO}_2^-$  mg/L), nitrato ( $\text{NO}_3^-$  mg/L) y alcalinidad total (AT mg  $\text{CaCO}_3$ /L) con fotómetro YSI Yellow Spring Instrument™ Ref 9500 Exactitud  $\pm 0,5\%$  a 4% transmitancia;  $\pm 0,005$  a 0,3 AU Resolución 0,001 AU, y sólidos sedimentables (SS ml/L) con conos Imhoff conforme a la metodología da APHA (1998), adaptada por Avnimelech (2007). Dos veces al día, pH, temperatura ( $T$  °C) y oxígeno ( $O_2$  mg/L y %) fueron determinados con sonda multiparamétrica HANNA HI98196.

Al final del establecimiento, se tomaron muestras del agua del biofloc en los tres tanques y, por triplicado, los sólidos totales (ST), volátiles (SV) y fijos (SF) para cada

tratamiento; los ST, SF y SV se midieron por el método gravimétrico siguiendo la metodología da APHA (2017) (2540B y 2005–2540E, respectivamente).

### **Toma de muestras y caracterización del zooplancton**

Los muestreos se realizaron cada dos días durante los últimos 14 días de experimentación. La recolección de las muestras de zooplancton se efectuó en los tres tratamientos, se tomaron cinco réplicas en diferentes puntos dentro de cada uno de los tanques sobre la parte superficial del cuerpo de agua. Dichas muestras se recogieron en frascos plásticos con un volumen de 50 ml, se fijaron con solución de Transeau (agua destilada, alcohol al 70% y Formol al 40% mezclados en proporción 6:3:1) (Arcos-Pulido y Gómez Prieto 2006), protegidos de la luz.

Para la observación e identificación del zooplancton, se tomaron las muestras de cada tratamiento y luego se observaron en la cámara de conteo Sedgwick-Rafter con marco de acrílico rectangular con una capacidad volumétrica de 1 ml.

Asimismo, se tomó 1 ml de cada una de las cinco muestras por relación C:N, estas se dejaron reposar por cinco minutos para que el zooplancton se deposite en el fondo de la cámara y examinar a una magnificación inicial de 10X y luego 20X con un microscopio óptico modelo NiKon-ECLIPSE Ti. Antes de iniciar el recuento de los 30 puntos al azar dentro de la cámara, se observó detenidamente toda la extensión de la cámara para identificar las principales especies presentes en la muestra y se tomaron fotografías, de tal modo que estudios han demostrado que en un recuento de 30 puntos se puede determinar entre el 90% o el 95% de las especies presentes en las muestras (Moreno *et al.* 2012).

Por otra parte, la identificación del zooplancton se realizó con ayuda de claves taxonómicas, entre ellas la de Rieradevall (1987); Korovchinsky (1992); Elmoor-Loureiro (1997); Glime (2017); Fontaneto y De Smet (2014); Aboal *et al.* (2012); Rogers y Thorp (2019).

La abundancia de microorganismos por grupo identificado se determinó por la fórmula: Abundancia = ((Vcf)(Ni))/(Vti)\*Vc; donde Vcf: volumen de la concentración; Ni: número de individuos contados; Vti: volumen total inicial; Vc: volumen de la muestra contado. La abundancia fue expresada en número de individuos/mL. La relación entre el número de especies y su abundancia relativa en tiempo y espacio se interpretó a través de los conteos de los 14 días de muestreo realizados por cada tratamiento planteada por Ayazo-Genes *et al.* (2019).

### **Análisis estadístico**

Se empleó un diseño completamente aleatorizado efecto fijo balanceado de tipo longitudinal con interacción en el tiempo, incorporando la técnica MANOVA, para determinar la dimensionalidad por medio de la función de máxima verosimilitud, mediante la transformación de datos por medio de la técnica BOX-COX. Las comparaciones unidimensionales se realizaron por medio de la prueba de Tukey, teniendo en cuenta un nivel de significancia del 5%. Se utilizó el paquete estadístico SAS University.

## **RESULTADOS**

### **Parámetros físicos y químicos del agua**

Se encontraron diferencias estadísticas entre T1 respecto a T3 para los parámetros potencial de óxido reducción (ORP,

mV) y SO; para el OD la diferencia se presentó entre el tratamiento 1 respecto a los demás. En cuanto a la temperatura, existe diferencia estadística entre todos los tratamientos; el análisis multivariado de la varianza permitió analizar de manera simultánea las variables: PH, ORP (mV), SO, OD, temperatura, detectando diferencia estadística entre los tratamientos. La prueba canónica permitió evidenciar la diferencia entre los tratamientos T1, T2 respecto a T3, como se observa en la tabla 1.

Para la variable  $\text{NO}_2^-$  la diferencia se dio entre el tratamiento T2 respecto a T3; al evaluar el  $\text{NO}_3^-$  la divergencia se dio entre T1, T2 respecto a T3; para las variables NAT y AT no se detectó diferencia estadística ( $p>0,05$ ). El análisis multivariado de la varianza, al evaluar de manera simultánea el  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , NAT y AT, detectó diferencia entre tratamientos, la prueba canónica permitió evidenciar la diferencia entre los tratamientos T1, T2 respecto a T3 (tabla 2).

Teniendo en cuenta que durante la estabilización del biofloc se presentan y registran en el tiempo las concentraciones de los compuestos nitrogenados ( $\text{NH}_4^+$  +  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$ ), en la figura 1 se presentan los comportamientos en los procesos de nitrificación para los tres tratamientos.

### **Perfil de sólidos**

En cuanto a los sólidos sedimentables (SS), no presentaron diferencia estadística entre tratamientos, para los totales (ST) la diferencia estuvo entre T2, T3 respecto a T1. Para los volátiles y fijos (SV, SF), existen diferencias significativas entre todos los tratamientos ( $p < 0,05$ ). El análisis canónico indica que, al evaluar de manera conjunta el perfil de sólidos, existen diferencias entre los tratamientos T2, T3 respecto a T1 (tabla 3).

**TABLA 1.** Análisis comparativo de los parámetros pH, potencial de oxidorreducción (ORP, mV), saturación de oxígeno (SO), oxígeno disuelto (OD) y temperatura (T°C) del agua durante el establecimiento del biofloc a tres relaciones carbono / nitrógeno

	T1 (10/1)	T2 (15/1)	T3 (20/1)
T (°C)	26,7±0,5 <sup>c</sup>	27,2±0,5 <sup>b</sup>	27,4±0,5 <sup>a</sup>
OD (mg/L)	7,1±0,3 <sup>a</sup>	6,9±0,3 <sup>b</sup>	6,8±0,4 <sup>b</sup>
SO (%)	92,9±3,3 <sup>a</sup>	91,5±4,1 <sup>ab</sup>	90,9±5,6 <sup>b</sup>
pH	7,3 - 8,5	7,4 - 8,6	7,2 - 8,6
ORP (mV)	271±30,3 <sup>a</sup>	260,9±27,3 <sup>ab</sup>	250,2±24,5 <sup>b</sup>
Dimensionalidad	Determinación de la dimensionalidad		
Valor propio	Proporción	F	Pr>F
1	0,4194	6,61	<0,0001
2	0,0049	0,21	0,9327
MANOVA	Análisis multivariado de la varianza		
Prueba	Valor	F	Pr>F
Wilks' Lambda	0,70109019	6,61	<0,0001
Pillai's Trace	0,30035364	6,04	<0,0001
Hotelling-Lawley T	0,42429061	7,19	<0,0001
Roy's Greatest	0,41938003	14,34	<0,0001
Comparación	T1 (10/1) <sup>a</sup>	T2 (15/1) <sup>a</sup>	T3 (20/1) <sup>b</sup>

Datos presentados como media ± desviación estándar.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Fuente: elaboración propia.

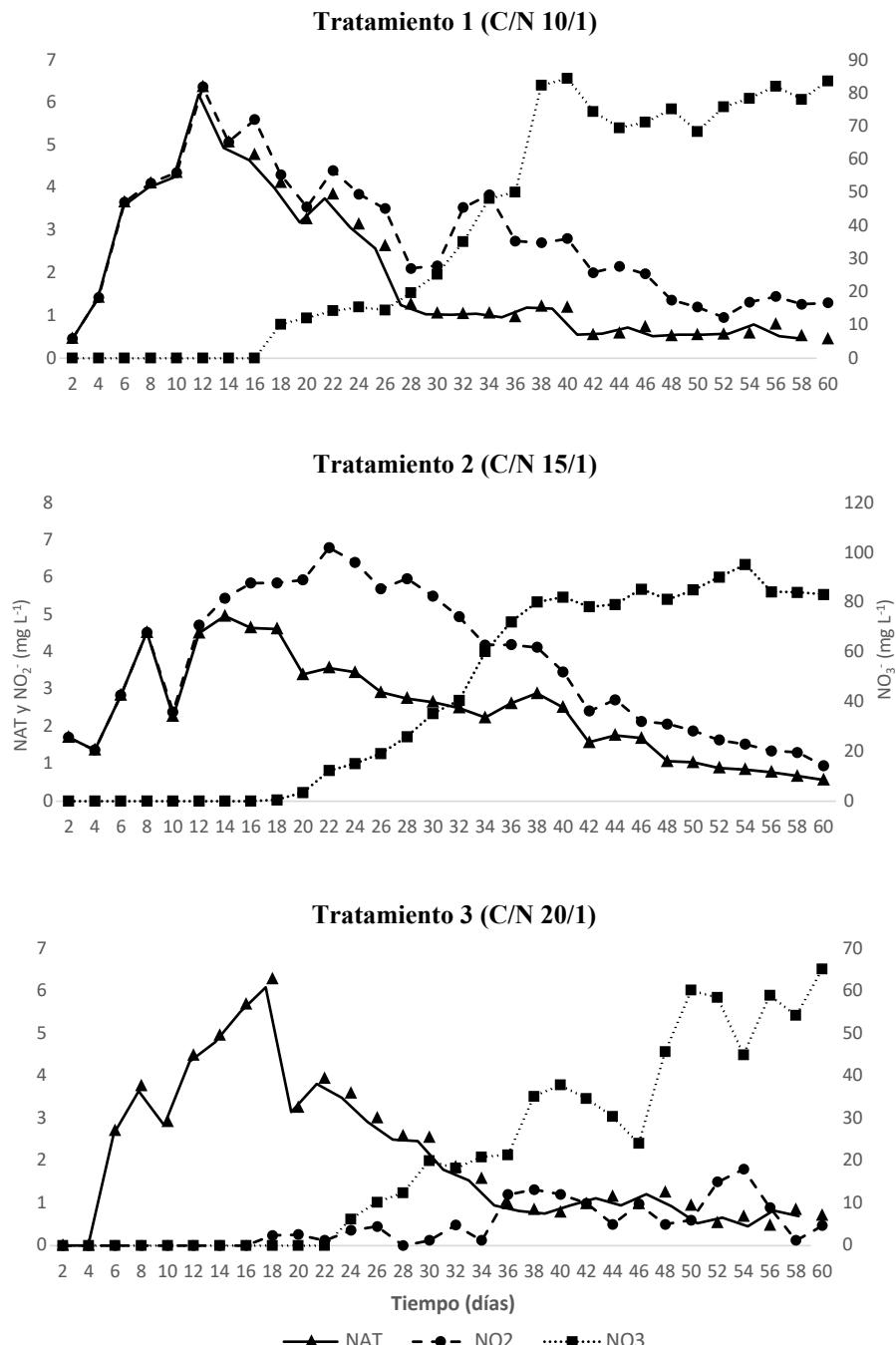
**TABLA 2.** Análisis comparativo de los parámetros: Nitrógeno Amoniacal Total (NAT= NH4+ + NH3); nitrito (NO2-), nitrato (NO3-) y alcalinidad total (AT) del agua durante el establecimiento del biofloc a tres relaciones C/N

	T1 (10/1)	T2 (15/1)	T3 (20/1)
NAT (mg/L)	2,0±1,7	2,5±1,3	2,1±1,7
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	0,8±0,7 <sup>ab</sup>	1,2±1,0 <sup>a</sup>	0,5±0,5 <sup>b</sup>
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	38,9±34,2 <sup>a</sup>	43,1±38,2 <sup>a</sup>	21,9±22,4 <sup>b</sup>
AT (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	114,1±18,4	114,0±16,2	106,2±18,9
Dimensionalidad	Determinación de la dimensionalidad		
Valor propio	Proporción	F	Pr>F
1	0,4845	3,88	0,0004
2	0,0395	0,86	0,4682
MANOVA	Análisis multivariado de la varianza		
Prueba	Valor	F	Pr>F
Wilks'Lambda	0,64802920	3,88	0,0004
Pillai's Trace	0,36438160	3,62	0,0008
Hotelling-Lawley T	0,52398874	4,15	0,0003
Roy's Greatest	0,48445660	7,87	<0,0001
Comparación	T1 (10/1) <sup>a</sup>	T2 (15/1) <sup>a</sup>	T3 (20/1) <sup>b</sup>

Datos presentados como media ± desviación estándar.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Fuente: elaboración propia.

**FIGURA 1.** Secuencia de procesos de nitrificación en la estabilización del biofloc a tres relaciones C/N.

Fuente: elaboración propia.

**TABLA 3.** Análisis comparativo de sólidos sedimentables (SS), sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV) y sólidos fijos (SF) del agua durante el establecimiento del biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno

	<b>T1 (10:1)</b>	<b>T2 (15:1)</b>	<b>T3 (20:1)</b>
SS (ml/L)	14±8,6	13,0±11,4	15,0±14,0
ST (mg/L)	1876,8±15,9 <sup>b</sup>	2119,2±24,0 <sup>a</sup>	2148,4±44,7 <sup>a</sup>
SV (mg/L)	141,1±5,8 <sup>c</sup>	218,0±14,2 <sup>b</sup>	290,2±43,2 <sup>a</sup>
SF (mg/L)	1735,7±19,6 <sup>c</sup>	1901,1±19,4 <sup>a</sup>	1858,2±4,6 <sup>b</sup>
Dimensionalidad	Determinación de la dimensionalidad		
Valor propio	Proporción	F	Pr>F
1	298,633	23,42	<0,0001
2	29,482	11,79	0,0041
MANOVA	Análisis multivariado de la varianza		
Prueba	Valor	F	Pr>F
Wilks' Lambda	0,00820657	23,42	<0,0001
Pillai's Trace	1,71431750	16,00	<0,0001
Hotelling-Lawley T	32,81143222	36,79	<0,0001
Roy's Greatest	29,86325623	79,64	<0,0001
Comparación	T1 (10:1) <sup>b</sup>	T2 (15:1) <sup>a</sup>	T3 (20:1) <sup>a</sup>

Datos presentados como media ± desviación estándar.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p<0.05$ ).

Fuente: elaboración propia.

## Abundancia y riqueza del zooplancton

Durante los últimos 14 días de la estabilización del sistema biofloc a tres diferentes relaciones carbono/nitrógeno, se identificaron 9 grupos de zooplancton, distribuidos en 17 familias, 17 géneros, 22 especies y 2 morfo especies (tabla 4). La mayor riqueza se observó en la relación 15/1 (T1).

En la figura 2, se presenta la abundancia de los organismos del zooplancton en los tres tratamientos registrada durante los últimos 14 días de la estabilización del biofloc, y en la figura 3 y 4 se presenta la abundancia por organismos del zooplancton por especie durante el periodo evaluado (14 días).

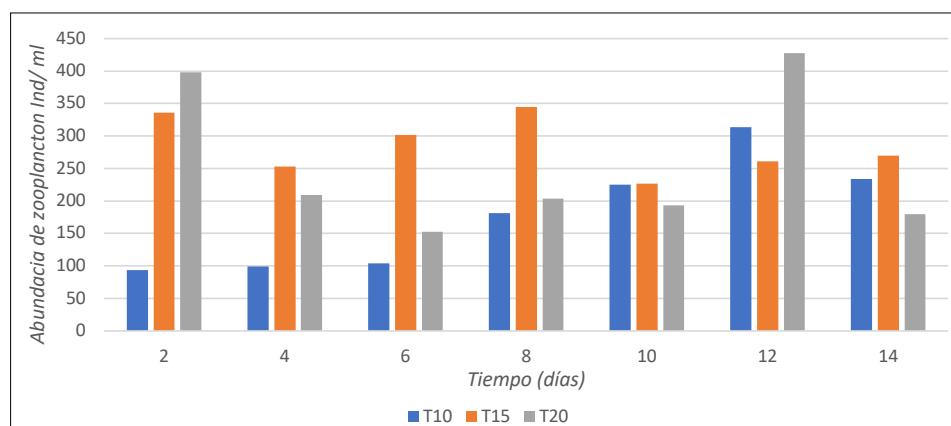
## DISCUSIÓN

Los reportes de investigaciones en biofloc presentan en su mayoría las restricciones de los experimentos como: relaciones C/N, niveles de proteína del alimento, fuentes de carbono orgánico e inorgánico, rangos de parámetros de calidad de agua etc., (Bakhshi *et al.* 2018; Brú-Cordero *et al.* 2017; Crab *et al.* 2010; Ekasari *et al.* 2014; Ekasari *et al.* 2015; Fauji *et al.* 2018; García-Ríos *et al.* 2019; Poli *et al.* 2015; Li *et al.* 2018), al igual que las fórmulas / ecuaciones donde describen de manera teórica los cálculos para las adiciones, regulaciones o correcciones del sistema (Ekasari *et al.* 2015; Ekasari *et al.* 2016; Hernández *et al.* 2017; Zapata *et al.* 2017), siendo los planteamientos

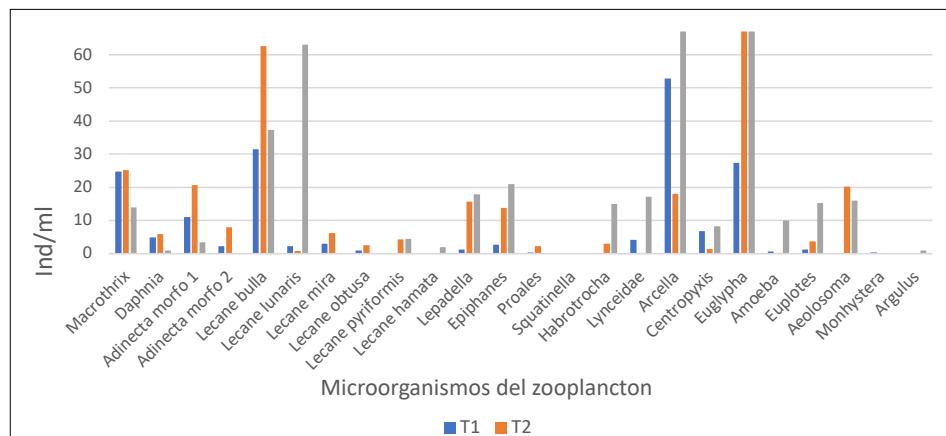
**TABLA 4.** Registro taxonómico del zooplancton (grupos, familias, géneros y especies) registrado en la estabilización de biofloc a tres relaciones C/N

Grupos	Familias	Géneros	Especie	T1	T2	T3
<b>Cladócero</b>	Macrothricidae	<i>Macrothrix</i>	<i>Macrothrix aff. triserialis.</i>	x	x	x
	Daphniidae	<i>Daphnia</i>	<i>Daphnia sp.</i>	x	x	x
	Adinectidae	<i>Adinecta</i>	<i>Adinecta morfo 1.</i> <i>Adinecta morfo 2.</i>	x	x	x
<b>Rotífera</b>			<i>Lecane aff. bulla.</i> <i>Lecane aff. lunaris.</i> <i>Lecane aff. mira.</i> <i>Lecane aff. obtusa.</i> <i>Lecane aff. pyriformis</i> <i>Lecane aff. hamata.</i>	x	x	x
	Lecanidae	<i>Lecane</i>		x	x	x
	Colurellidae	<i>Lepadella</i> <i>Squatinella</i>	<i>Lepadella sp.</i> <i>Squatinella sp.</i>	x	x	x
	Epiphanidae	<i>Epiphantes</i>	<i>Epiphantes sp.</i>	x	x	x
	Proalidae	<i>Proales</i>	<i>Proales sp.</i>	x	x	--
	Habrotrochidae	<i>Habrotrocha</i>	<i>Habrotrocha sp.</i>	--	x	x
<b>Ostrácodos</b>	Lynceidae		<i>Lynceidae.</i>	x	x	x
<b>Rizópodos (Tecamebas)</b>	Arcellidae	<i>Arcella</i>	<i>Arcella sp.</i>	x	x	x
	Centropyxidae	<i>Centropyxis</i>	<i>Centropyxis sp.</i>	x	x	x
	Euglyphidae	<i>Euglypha</i>	<i>Euglypha .</i>	x	x	x
<b>Rizópodos (Amebas)</b>	Amoebidae	<i>Amoeba</i>	<i>Amoeba sp.</i>	x	x	x
<b>Ciliados</b>	Euplotidae	<i>Euplates</i>	<i>Euplates sp.</i>	x	x	x
<b>Anélidos</b>	Aeolosomatidae	<i>Aeolosoma</i>	<i>Aeolosoma sp.</i>	x	x	x
<b>Nematodo</b>	Euglyphidae	<i>Monhystera</i>	<i>Monhystera.</i>	x	x	x
<b>Ácaros</b>	Argulidae	<i>Argulus</i>	<i>Argulus sp.</i>	--	x	x

Fuente: elaboración propia.

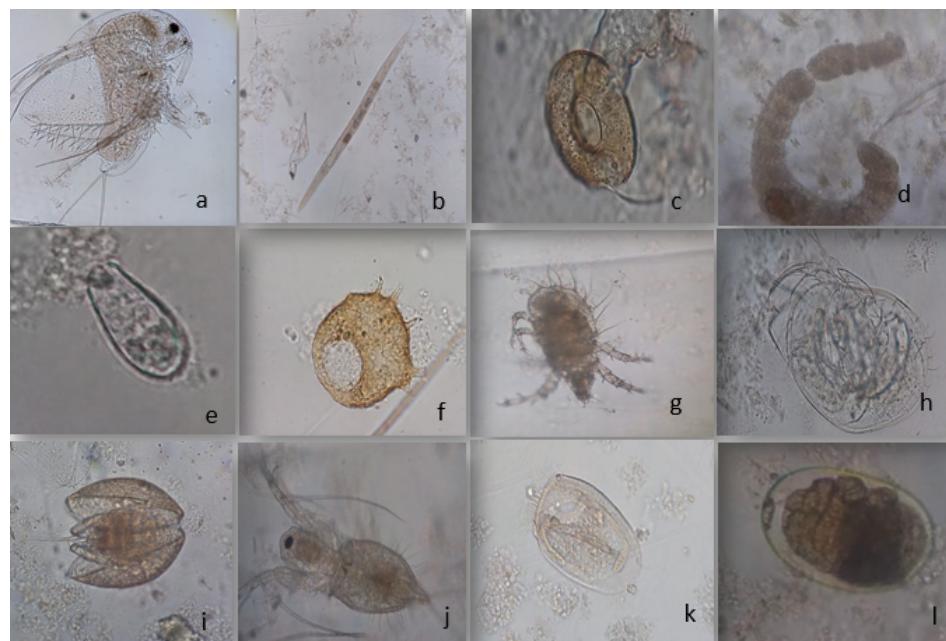
**FIGURA 2.** Abundancia de microorganismos del zooplancton (individuos/ml) en biofloc a tres diferentes relaciones C/N durante los últimos 14 días de estabilización.

Fuente: elaboración propia.



**FIGURA 3.** Abundancia de microorganismos del zooplancton por especie (ind/ml) en biofloc a tres diferentes relaciones C/N durante los últimos 14 días de estabilización.

Fuente: elaboración propia.



**FIGURA 4.** Cladóceros, nemátodos, anélidos, ciliados, rizópodos (amebas), ácaros observados en el cultivo de biofloc a tres relaciones C/N. a. *Macrothrix*, b. *Monhydria*, c. *Arcella*, d. *Aeolosoma*, e. *Euglypha*, f. *Centropyxis*, g. *Argulus*, h. *Lynceidae morfo 1*. i. *Lynceidae j*. j. *Daphnia*, k. *Euplotes*, l. *Amoeba*.

Fuente: elaboración propia.

de mayor relevancia y citación los reportados por De Schryver *et al.* (2008), Avnimelech (2009) y Timmons *et al.* (2002).

No obstante lo anterior, son pocas las publicaciones que describen con detalle las actividades, procedimientos y consideraciones para el establecimiento del biofloc en general y para larvicultura en particular (Gomes Vilani *et al.* 2016; Hargreaves 2013). A continuación se presenta la discusión de los resultados obtenidos en los experimentos de estabilización del biofloc sustentados en la calidad del agua y la producción de alimento vivo (zooplancton).

### **De la calidad del agua**

Las mediciones y los resultados de la calidad del agua durante los experimentos evidencian el efecto *buffer* en la estabilidad del pH del agua para los tres tratamientos (sin diferencia significativa), manteniéndose en valores medios cercanos a 8, atribuibles a la adición de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) con el que se reguló la AT, estos aportes de sales de materiales básicos como el  $\text{Na}^+$  en conjunto con aniones como el  $\text{HCO}_3^-$  generan ese efecto en la neutralización de ácidos ( $\text{H}^+$ ) y/o bases ( $\text{OH}^-$ ) (Manrique y Peláez 2013; Kubitz 2017). De esta manera, los valores de la AT estuvieron entre 87,3 – 132,5 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ , sin diferencia entre tratamientos; estos valores de pH y AT están dentro de los rangos reportados para el cultivo de larvas y alevinos de peces en biofloc (Ekasari *et al.* 2015; Ekasari *et al.* 2016; Emerenciano *et al.* 2017; García-Ríos *et al.* 2019; Poli *et al.* 2015; Li *et al.* 2018; Zapata *et al.* 2017).

La saturación de oxígeno fue diferente entre los tratamientos 1 y 2, en tanto que el oxígeno disuelto presentó diferencia entre los tres tratamientos, la cual fue a

la vez inversa a la relación C/N, cuanto menor la relación, mayor fue el oxígeno disuelto (mg/L). Este comportamiento puede ser explicado por la mayor cantidad de melaza que se adicionó a los tratamientos (macrocosmos) con mayores relaciones C/N ( $T_2 = 15/1$  y  $T_3 = 20/1$ ), contrario al  $T_1$ , al cual no se adicionó melaza (alimento con 32% de PB  $\approx$  C/N  $\rightarrow 10/1$ ), por consiguiente es posible generar dominancia en los procesos de inmovilización de nitrógeno y nitrificación al variar el nivel de adición de carbohidratos, pudiéndose controlar la relación entre estas dos variables (Avnimelech 2015), así también la mayor adición de melaza en el  $T_2$  y  $T_3$  generó procesos heterótrofos con mayor consumo de oxígeno y mayor generación de sólidos, teniendo en cuenta el balance estequiométrico presentado por Ebeling *et al.* (2006), con todo, el oxígeno se mantuvo en rangos confortables para el establecimiento del biofloc, teniendo en cuenta lo definido por Avnimelech (2009).

La disponibilidad de C (orgánico e inorgánico), bajo condiciones de saturación de oxígeno, alcalinidades mayores a 87,3 mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , temperaturas mayores a 26,02 °C registradas para los tres tratamientos, sumada a la continua adición de alimento con 32% de PB, dio condiciones para el establecimiento relativamente rápido de microrganismos quimiautótrofos, los cuales obtienen su energía a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos como el amonio, el cual sufre la oxidación biológica a  $\text{NO}_2^-$  y posteriormente a  $\text{NO}_3^-$  mediante el proceso de nitrificación (Jiménez-Ojeda *et al.* 2018).

Para todos los casos, el incremento del NAT se presentó a partir del segundo día, esto puede ser atribuido a las condiciones propias del inóculo empleado para el arranque de los tanques, los valores máximos de

TAN para el T1 y T2 en el día 14 (5,1 y 4,97 mg/L, respectivamente) y para el T3 de 6,28 mg/L a los 18 días, coincidiendo con lo expuesto por Ray y Lotz (2014), los máximos niveles en un sistema heterotrófico se presentaron a los 28 días con un nivel de proteína del 35%, para relaciones 10 y 15/1 las máximas concentraciones de NAT se dan en menores tiempo que en procesos heterótrofos, acorde con lo reportado por Zapata *et al.* (2017) y Martins *et al.* (2017), presentando curvas descendentes hasta llegar a rangos no letales del amonio no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) siendo este dependiente del pH y la temperatura (Emerson *et al.* 1975); estos comportamientos del NAT durante el establecimiento del biofloc están reportados por Avnimelech (2015), por lo cual se requiere de 30 a 40 días para llegar a niveles no tóxicos para especies de peces (Jiménez-Ojeda *et al.* 2018), datos similares a los encontrados en el presente experimento y en rangos no letales para especies del género *Piaractus* (Barbieri y Vigliar Bondioli 2015).

Consecuentemente con las condiciones de calidad de agua y la disponibilidad de carbono (orgánico e inorgánico), se evidencian los procesos de nitrificación cuando aparecen y aumentan las concentraciones de  $\text{NO}_2^-$  con picos para el T1 desde el día 12 y para T2 desde el día 22, los que fueron más rápidos a los establecidos por Zapata *et al.* (2017) en relaciones C/N similares que fueron entre 28 y 32 días para relaciones similares; el T3 nunca presentó concentraciones por encima de 1,8 mg/L durante los 60 días en los que se vigiló el inicio del biofloc, siendo que Azim *et al.* (2008) reportan un incremento de  $\text{NO}_2^-$  con valores cercanos a 1,5 mg/L para el día 21, similar a los datos reportados para el presente estudio. Las menores concentraciones de  $\text{NO}_2^-$  en

T3, como se ha dicho, pudieron deberse a la mayor adición de carbono orgánico que se realizó en este tratamiento, las cuales dieron origen a condiciones heterotróficas más pronunciadas, lo que se hace evidente cuando en T3 las concentraciones de NAT se sitúan por debajo de 1 mg/L a partir del día 36.

La concentración de  $\text{NO}_3^-$  para los 3 macrocosmos durante los 60 días iniciales de establecimiento de los bioflocs presentaron diferencias significativas entre el T3 y T1 y T2, siendo inversa a la relación C/N, lo cual puede ser atribuido al mayor aporte de carbono orgánico que requieren las mayores relaciones y su dependencia con el nivel de proteína del alimento suministrado, como lo plantean Azim *et al.* (2008) al encontrar diferencias en la concentración de nitratos cuando varía el nivel de proteína.

Por otra parte, autores como De Schryver *et al.* (2008), Hargreaves (2013), Ray y Lotz (2014) y Avnimelech (2015) plantean el favorecimiento a microorganismos heterótrofos en el biofloc mediante relaciones C/N 20:1, pues logran remover el NAT con la adición de carbohidratos, siendo esta una ruta rápida, tratando de restringir en alguna medida la formación y acumulación de  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  (Avnimelech 2015); no obstante, para las tres relaciones C:N se presentaron procesos de nitrificación como una de las principales vías del ciclo del nitrógeno (Stein y Klotz 2016) en los sistemas de cultivo con biofloc (Avnimelech 2015) y concentraciones de NAT y  $\text{NO}_2^-$  inferiores a 1 mg/L y  $\text{NO}_3^-$  superiores a 60 mg/L al día 60, dando condiciones de establecimiento a comunidades bacterianas asociadas con la remoción de los compuestos nitrogenados generados continuamente por la adición de alimento diario.

## Del perfil de sólidos y conformación del zooplancton

No se encontró diferencia en los SS entre tratamientos, estando al final del experimento en valores medios cercanos a los 14 ml/L, estando en el rango de concentraciones recomendado para alevinaje de tilapia (5 – 20 ml/L) medidos en conos imhoff, sugiriendo que mayores concentraciones pueden consumir más oxígeno por las comunidades heterotróficas y oclusión en las branquias de los peces (Emerenciano *et al.* 2017).

Para los sólidos volátiles, entendidos como la carga orgánica de los sólidos totales (Boyd 2015), se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, siendo la mayor concentración para T3 ( $290,2 \pm 43,2$  mg/L) > que T2 ( $218,0 \pm 14,2$  mg/L) y > que T1 ( $141,1 \pm 5,8$  mg/L), el mayor valor de T3 ocurrió similar a lo reportado por Azim *et al.* (2008), quienes obtuvieron valores cercanos a los 300 mg/L de SSV, que, como se ha propuesto, puede atribuirse a la mayor adición de melaza de tal tratamiento utilizada para mantener la relación teórica de C/N en 20/1, lo que removió el N a partir de favorecer una dominancia de comunidades heterotróficas con la consecuente producción de SSV, como lo plantean Ebeling *et al.* (2006). Todo lo anterior, la fuente de carbono y cantidad adicionada, se puede considerar que afectó la composición orgánica del biofloc reflejada en los sólidos volátiles registrados, lo cual cambia la biodisponibilidad de nutrientes y sus relaciones, que a su vez afecta la conformación de la microfauna, como lo plantean Crab *et al.* (2012).

Hernández *et al.* (2017) consideran fundamental la transferencia de materia y energía desde la red trófica a niveles superiores, en este sentido, bajo las condiciones de inicio y establecimiento, regulación y

mantenimiento de la calidad del agua y perfiles de sólidos del biofloc reportados para este trabajo, los tres tratamientos (macrocosmos) a diferentes relaciones C/N presentaron organismos del zooplancton, como lo reportan diferentes autores (Ray *et al.* 2010; Monroy-Dosta *et al.* 2013; Hernández *et al.* 2017; Ayazo-Genes *et al.* 2019).

Se resalta que la conformación del zooplancton es fundamental para el cultivo de larvas de peces nativos al inicio de la alimentación exógena (Atencio 2001; David-Ruales *et al.* 2018) como la cachama blanca por su tendencia alimenticia de zooplancton durante etapas tempranas (Machado-Allison 1992).

El tratamiento que presentó mayor abundancia del zooplancton fue el T2. No obstante, los rotíferos fueron los grupos de mayor abundancia en todos los tratamientos, con los géneros Lecane, similar a lo reportado en la caracterización del plancton en biofloc por Ayazo-Genes *et al.* (2019), Betancur González *et al.* (2016) y Castro-Mejía *et al.* (2017).

Se destaca la presencia de otros organismos como las *Macrothrix* y *Daphnia* para los tratamientos T1 y T2, de importancia en la larvicultura de peces, en concordancia con organismos como Cladóceros y Copépodos reportados por Ayazo-Genes *et al.* (2019).

## CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones expuestas, la estabilización del biofloc en las tres relaciones de C/N evaluadas se mostraron adecuadas en términos de la calidad de agua y producción de alimento vivo, siendo que la relación C/N = 15/1 presentó las mayores riqueza y abundancia de microorganismos del zooplancton.

## CONFLICTO DE INTERESES

El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

## FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado con recursos de la Universidad de los Llanos en el marco del proyecto de investigación “Experimentos de piscicultura de tres especies de peces ornamentales en sistema intensivo con tecnología biofloc, a partir de larvas” (código del proyecto C09-F01-009-2019).

## AGRADECIMIENTOS

Una eterna gratitud a nuestra amiga y compañera Yaqueleine Jiménez Moreno (Q.E.P.D.) por todo lo que nos ha enseñado. Gracias a su dedicación durante largas horas en el microscopio se obtuvieron los resultados, razón por la cual le dedicamos este trabajo.

Los autores expresan su agradecimiento a la dirección general de investigaciones (DGI) de la Universidad de los Llanos por la financiación del proyecto.

## REFERENCIAS

- Aboal M, Alvares-Troncoso R, Corrochano-Codorníu A. 2012. ID-impuesto. Catálogo y claves de identificación de organismos fitoplanctónicos como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente: Madrid, España.
- Arcos-Pulido MDP, Gómez Prieto AC. 2006. Microalgas perifíticas como indicadoras del estado de las aguas de un humedal urbano: Jaboque, Bogotá DC, Colombia. Nova. 5(6):60-79.

APHA. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20<sup>th</sup> edition. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environmental Federation, Washington DC.

APHA. 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater. 23<sup>rd</sup> Edition, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Denver.

Atencio GV. 2001. Producción de alevinos de especies nativas. Revista MVZ Córdoba. 6(1): 9-14. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1060>

Avnimelech Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. Aquaculture. 264(1-4): 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>

Avnimelech Y. 2009. Biofloc Technology – A practical guide book. Baton Rouge, Louisiana, USA: World Aquaculture Society.

Avnimelech Y. 2015. Biofloc technology: a practical guide book. 3<sup>rd</sup> edition. Baton Rouge, Louisiana, USA: World Aquaculture Society.

Ayazo-Genes J, Pertuz-Buelvas V, Jiménez-Velásquez C, Espinosa-Araujo J, Atencio-García V, Prieto-Guevara M. 2019. Comunidades planctónicas y bacterianas asociadas al cultivo de bocachico *Prochilodus magdalenae* con tecnología biofloc. Rev MVZ Córdoba. 24(2): 7209-7217. <https://doi: 10.21897/rmvz.1648>

Azim ME, Little DC, Bron JE. 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. Bioresour Technol. 99(9):3590-3599. <https://doi: 10.1016/j.biortech.2007.07.063>

Bakar NSA, Nasir NM, Lananan F, Hamid SHA, Lam SS, Jusoh A. 2015. Optimization of C/N ratios for nutrient removal in aquaculture system culturing African catfish, (*Clarias gariepinus*) utilizing Bioflocs Technology. Int Biodeterior Biodegradation. 102:100-106. <https://doi: 10.1016/j.ibiod.2015.04.001>

Bakhshi F, Najdegerami EH, Manaffar R, Tukmechi A, Farah KR. 2018. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. Aquaculture. 484:259-267. <https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.11.036>

- Barbieri E, Vigliari Bondioli AC. 2015. Acute toxicity of ammonia in Pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) at different temperatures levels. Aquac Res. 46(3):565-571. <https://doi.org/10.1111/are.12203>
- Betancur González EM, David Ruales CA, Gutiérrez LA. 2016. Diversidad del perifiton presente en un sistema de producción de tilapia en biofloc. Rev Lasallista Investig. 13(2): 163-177. <https://doi:10.22507/rli.v13n2a15>
- Boyd CE. 2015. Water quality: an introduction. Springer Publisher. 330 p. <https://doi:10.1007/978-3-319-17446-4>
- Brú-Cordero SB, Pertuz-Buelvas V, Ayazo-Genes J, Atencio-García VJ, Pardo-Carrasco S. 2017. Bicultivo de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en biofloc alimentadas con dietas de origen vegetal. Rev Med Vet Zoot. 64(1):44-60. <https://doi:10.15446/rfmvz.v64n1.65824>
- Castro-Mejía G, De Lara AR, Monroy-Dosta MC, Maya-Gutiérrez S, Castro-Mejía J, Jiménez-Pacheco F. 2017. Presencia y abundancia de fitoplancton y zooplancton en un sistema de producción de Biofloc utilizando dos aportes de carbono: 1) Melaza y 2) Melaza + pulido de arroz cultivando al pez *Oreochromis niloticus*. Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente. 1(13):33-42.
- Collazos-Lasso LF, Arias-Castellanos JA. 2015. Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. Orinoquia. 19(1):77-86. <https://doi:10.22579/20112629.341>
- Crab R, Chielens B, Wille M, Bossier P, Verstraete W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae. Aquac Res. 41:559-567. <https://doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x>
- Crab R, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. Aquaculture. 356-357:351-356. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>
- David-Ruales C, Machado-Fracalossi D, Vásquez-Torres W. 2018. Desarrollo temprano en larvas de peces, clave para el inicio de la alimentación exógena. Rev Lasallista Investig. 15(1):180-194. <https://doi:10.22507/rli.v15n1a10>
- De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. Aquaculture. 277(3-4):125-137. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>
- Ebeling JM, Timmons MB, Bisogni JJ. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture. 257(1-4):346-358. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- Ekasari J, Hanif Azhar M, Surawidjaja EH, Nuryati S, De Schryver P, Bossier P. 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. Fish Shellfish Immunol. 41(2):332-339. <https://doi:10.1016/j.fsi.2014.09.004>
- Ekasari J, Rivandi DR, Firdausi AP, Surawidjaja EH, Zairin M, Bossier P, De Schryver P. 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. Aquaculture. 441:72-77. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>
- Ekasari J, Suprayudi MA, Wiyoto W, Hazanah RF, Lenggara GS, Sulistiani R, Zairin M. 2016. Biofloc technology application in African catfish fingerling production: The effects on the reproductive performance of broodstock and the quality of eggs and larvae. Aquaculture. 464:349-356. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2016.07.013>
- Elmoor-Loureiro LMA. 1997. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil. Projeto: Biodiversidade de Cladóceros no Brasil. Editorial: Editora Universa – UCB. 156 p.
- Emerenciano MGC, Martínez-Córdova LR, Martínez-Porchas M, Miranda-Baeza A. 2017. Biofloc technology (BFT): A tool for water Quality management in aquaculture. In: Tutu H. (Ed.), Water Quality. InTechOpen, London, UK, pp. 91-109. <https://doi:10.5772/66416>
- Emerson K, Russo RC, Lund RE, Thurston RV. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. J Fish Res Board Can. 32:2379-2383. <https://doi:10.1139/f75-274>

- Fauji H, Budiardi T, Ekasari J. 2018. Growth performance and robustness of African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) in biofloc-based nursery production with different stocking densities. *Aquac Res.* 49(3):1339-1346. <https://doi:10.1111/are.13595>
- Fontaneto D, De Smet WH. 2014. Manual de Zoología, Gastrotricha, Cicloneuralia y Gnathifera. Vol 3, Gastrotricha y Gnathifera Cap: Rotifera, pp. 217-300.
- García-Ríos L, Miranda-Baeza A, Coelho-Emerenciano MG, Huerta-Rábago JA, Osuna-Amarillas P. 2019. Biofloc technology (BFT) applied to tilapia fingerlings production using different carbon sources: Emphasis on commercial applications. *Aquaculture.* 502:26-31. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2018.11.05>
- Glime JM. 2017. Invertebrates: Rotifer Taxa – Monogononta. Chap. 4-7a. In: Glime JM (Ed.), Bryophyte Ecology. Vol 2: 4-7a-1 Bryological Interaction. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Disponible en: <http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology2/>
- Gomes Vilani F, Schveitzer R, da Fonseca Arantes R, do Nascimento Vieira F, Manoel do Espírito Santo C, Quadros Seiffert W. 2016. Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. *Aquac Eng.* 74:70-75. <https://doi:10.1016/j.aquaeng.2016.06.002>
- Hargreaves JA. 2013. Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Publication No. 4503. 12 p.
- Hernández ER, Rodríguez MA, Ruiz MO, Monroy DMC. 2017. Ecological succession of plankton in a biofloc system with molasses as carbon source. *Sci J Biol Sci.* 6(7):222-228. <https://doi:10.14196/sjbs.v6i7.2456>
- Jiménez-Ojeda YK, Collazos-Lasso LF, Arias-Castellanos JA. 2018. Dynamics and use of nitrogen in Biofloc Technology – BFT. AACL Bioflux. 11(4):1107-1129.
- Korovchinsky NM. 1992. Sididae and holopediidae: (Crustacea: Daphniiformes). In: Bayly IAE. (Ed.), Guides to the identification of the macroinvertebrates of the continental waters of the world. SPB Academic Pub., Hague, Netherlands. 82 p.
- Kubitza F. 2017. A relação entre pH, gás carbônico, alcalinidade e dureza sua influência no desempenho e saúde dos peixes e camarões. Rev Panorama de AQÜICULTURA. Disponível en: <https://panoramadaaquicultura.com.br/a-agua-na-aquicultura-parte-2/>
- Li J, Liu G, Li C, Deng Y, Tadda MA, Lan L, Liu D. 2018. Effects of different solid carbon sources on water quality, biofloc quality and gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae. *Aquaculture.* 495:919-931. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2018.06.078>
- Lima PCM. 2017. Efeito da adição de *Chlorella Vulgaris* e melão na qualidade da água e crescimento de alevinos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistemas de bioflocs com baixa salinidade. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 62 p.
- Machado-Allison A. 1992. Larval Ecology of Fish of the Orinoco Basin. W. C. Hamlett (ed.). Reproductive Biology of South American Vertebrates. Springer-Verlag New York. Inc. pp. 45-48.
- Manrique L, Peláez M. 2013. Manual de análisis de calidad de aguas en ecosistemas acuáticos andino-amazonicos: análisis físicos y químicos. Vicerrectoría de investigaciones, Universidad de la Amazonía, Florencia, Colombia. 179 p.
- Martins GB, Tarouco F, Rosa CE, Robaldo RB. 2017. The utilization of sodium bicarbonate, calcium carbonate or hydroxide in biofloc system: water quality, growth performance and oxidative stress of Nile tilapia (*O. niloticus*). *Aquaculture.* 468:10-17. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2016.09.046>
- Martins MA, Poli MA, Legarda EC, Pinheiro IC, Carneiro RFS, Pereira SA, do Nascimento Vieira F. 2020. Heterotrophic and mature biofloc systems in the integrated culture of Pacific white shrimp and Nile tilapia. *Aquaculture.* pp. 734517. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2019.734517>

- Miranda-Baeza A, Nolasco-López M, Rivas-Vega ME, Huerta-Rábago KJA, Martínez-Córdova LR, Martínez-Porchas M. 2019. Short-term effect of the inoculation of probiotics in mature bioflocs: Water quality parameters and abundance of heterotrophic and ammonia-oxidizing bacteria. *Aquac Res.* 51(2):255-264. <https://doi:10.1111/are.14371>
- Monroy-Dosta MC, De Lara-Andrade R, Castro-Mejía J, Castro-Mejía G, Coelho-Emerenciano MG. 2013. Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Rev Biol Mar Oceanogr.* 48(3):511-520. <https://doi:10.4067/S0718-19572013000300009>
- Moreno JR, Medina CD, Albarracín VH. 2012. Aspectos ecológicos y metodológicos del muestreo, identificación y cuantificación de cianobacterias y microalgas eucariotas. *Reduca (Biología).* 5(5):110-125.
- Poli MA, Schweitzer R, De Oliveira Nuñez AP. 2015. The use of biofloc technology in a South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: Effect of suspended solids in the performance of larvae. *Aquac Eng.* 66:17-21. <https://doi:10.1016/j.aquaeng.2015.01.004>
- Ray AJ, Seaborn G, Leffler JW, Wilde SB, Lawson A, Browdy CL. 2010. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture.* 310(1-2):130-138. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2010.10.019>
- Ray AJ, Lotz JM. 2014. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquac Eng.* 63:54-61. <https://doi:10.1016/j.aquaeng.2014.10.001>
- Rieradevall SM. 1987. Atlas de los Microorganismos de Agua dulce. La vida es una gota de agua dulce. Barcelona: Ediciones Omega, S.A. pp. 275-291.
- Rogers DC, Thorp JH (Eds.). 2019. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates. Vol 3: Keys to Palaearctic Fauna. Amsterdam, USA. Elsevier.
- Stein LY, Klotz MG. 2016. The nitrogen cycle. *Curr Biol.* 26(3):R94–R98. <https://doi:10.1016/j.cub.2015.12.021>
- Timmons MB, Ebeling JM, Wheaton FW, Summerville ST, Vinci BJ. 2002. Recirculating aquaculture systems. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Cayuga Aqua Venture. 769 p.
- Xu WJ, Morris TC, Samocha TM. 2016. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture.* 453:169-175. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2015.11.021>
- Zapata LK, Brito LO, Maciel De Lima PC, Vinatea ALA, Galvez AO, Cárdenas VJM. 2017. Cultivo de alevines de tilapia en sistema biofloc bajo diferentes relaciones carbono/nitrógeno. *Bol Inst Pesca.* 43(3):399-407. <https://doi:10.20950/1678-2305.2017v43n3p399>

### Forma de citación del artículo:

Collazos-Lasso LF, Ueno-Fukura M, Jiménez-Moreno Y (Q.E.P.D.), Suárez-Contento I, Aya-Baquero E. 2022. Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton. *Rev Med Vet Zoot.* 69(3):281-298. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.99968>