

UNIVERSIDAD NACIONAL AGARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERIA



“ EVALUACIÓN DE LA INVERSIÓN SEXUAL DE TILAPIA GRIS
(*Oreochromis niloticus*) BAJO UN SISTEMA DE BIOFLOCS ”

Presentado por:

SOFÍA YSABEL RAMÍREZ CARTY

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO PESQUERO

Lima – Perú

2015

DEDICATORIA

A mi mami quien a pesar de ya no encontrarse con nosotros estoy segura que estaría muy orgullosa. Desde muy pequeños nos enseñaste que el cariño no se demuestra con palabras sino con hechos. Espero que te encuentres muy bien al lado de Dios y que siempre nos cuides e intercedas por nosotros.

A mis padres, hermano y Moshi quienes me acompañaron en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, quienes mediante su esfuerzo me permitieron contar con una carrera universitaria y que sin su apoyo no sería la persona que soy hoy. Agradezco a mi mamá quien siempre estuvo dispuesta a escucharme y apoyarme.

A mi hermano quien siempre confió en mí aún en los momentos más difíciles.

A Manuel Vargas quien me ayudó durante la etapa experimental y quien sin su apoyo no hubiera sido fácil sobrellevar los momentos difíciles que se presentaron en el experimento.

Agradezco sinceramente a todos los profesores quienes fueron parte de mi vida durante la etapa universitaria, quienes no sólo me enseñaron lo referente al ámbito educativo sino que en algunos casos, también me enseñaron como enfrentar los obstáculos que se presentan en la vida.

A mi profesora asesora Ing. Elsa Vega Galarza quien me permitió y enseñó a desarrollar con profesionalismo la presente investigación así como también agradezco el que haya incluido el tema dentro de las investigaciones subvencionadas ya que sin el apoyo de CONCYTEC no hubiera sido posible su realización.

A las profesoras M. Sc. Jessie Vargas, M. Sc. Beatriz Angeles y M. Ing. María Miglio quienes fueron parte del equipo que permitió desarrollar los conocimientos vertidos en el presente documento y quienes estuvieron en todo momento dispuestas a apoyarme durante la investigación.

A los miembros del jurado, quienes dedicaron su tiempo para poder permitirme aprender de sus experiencias y conocimientos en relación al tema, al desarrollo y corrección de la tesis.

Al técnico acuacultor, el Sr. Víctor Meneses, quien en todo momento me apoyó durante la elaboración de la etapa experimental y siempre estuvo dispuesto a enseñarme en base a sus años de experiencia en el CINPIS.

A Raquel quien me acompañó y apoyó durante la segunda parte experimental del proyecto.

ÍNDICE GENERAL

		Pag.
	RESUMEN	Pag.
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	2
	2.1. SISTEMA DE BIOFLOC	2
	2.1.1 Dinámica del biofloc	3
	2.1.2 Ventajas del uso de un sistema de biofloc	8
	2.1.3 Uso de biofloc en cultivo de tilapia	8
	2.2. CULTIVO DE TILAPIA	9
	2.2.1 Aspectos generales	9
	2.2.2 Inversión sexual	10
	2.2.3 Hormona 17 metil testosterona	11
	• Inversión por alimento con hormona 17 alfa metil testosterona	13
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	
	3.1. LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN	15
	3.2. ACONDICIONAMIENTO DEL SISTEMA	15
	3.2.1 Elaboración de alimento con hormona	15
	3.2.2 Unidades experimentales	17
	a. Descripción de unidades experimentales	17
	b. Instalación de unidades experimentales	17

3.3.	DESARROLLO	DEL	EXPERIMENTO
18			
3.3.1	Etapa	de	inversión sexual
18			
a.-	Evaluación	del	crecimiento
19			
b.-			Sobrevivencia
20			
c.-	Calidad	de	agua
20			
• Controles			diarios
21			
• Controles			semanales
21			

	3.3.2 Evaluación de la eficiencia de la inversión sexual	22
	a.- Crecimiento	22
	b.- Identificación del sexo	23
	3.4. DISEÑO ESTADÍSTICO	26
26	3.4.1 Crecimiento y sobrevivencia	
26	3.4.2 Evaluación de inversión sexual	
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
27		
27	4.1. CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE ALEVINES	
27	4.1.1 Crecimiento	
29	4.1.2 Sobrevivencia	
29	a. Parámetros de calidad de agua.	
	• Temperatura (T°)	30
	• Oxígeno disuelto	(OD)
		31
	• Potencial Hidrógeno	(pH)
		32
	• Sólidos sedimentables totales	(SST)
		33
	• Amoníaco	(NH ₃)
		34
	4.2. EVALUACIÓN DE INVERSIÓN SEXUAL	34
V	CONCLUSIONES	
38		

VI RECOMENDACIONES

39

VII

REFERENCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

40

VIII

ANEXOS

46

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Resultados de masculinización obtenidos de la eficiencia de inversión sexual utilizando hormona 17 alfa metil testosterona.	12
Tabla 2: Parámetros de calidad de agua, temperatura (°T), oxígeno disuelto (OD), potencial hidrógeno (pH) y sólidos sedimentables totales (SST) controlados diariamente.	21
Tabla 3: Parámetros de calidad de agua, N amoniacal, N nitritos, N nitratos controlados semanalmente.	22
Tabla 4: Valores de proteína (Nitrógeno * 6.25) del biofloc en los cuatro tanques experimentales con tratamiento de biofloc.	28
Tabla 5: Tasa de sobrevivencia de la inversión sexual.	29
Tabla 6: Valores promedio, máximo, mínimo, y desviación estándar para cada tratamiento (T-1 y T-2) durante el periodo experimental de los parámetros los parámetros de temperatura (°C), oxígeno disuelto (OD) y potencial hidrógeno (pH).	30
Tabla 7: Peso y longitud total promedio (g) y longitud total promedio (mm) de acuerdo al sexo por tratamiento.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Dinámica del biofloc.	5
Figura 2: Procesos de conversión de proteína en un sistema de biofloc.	7
Figura 3: Proceso de la elaboración de alimento con hormona.	16
Figura 4: Proceso de secado.	16
Figura 5: Asignación de los tratamientos en las unidades experimentales.	17
Figura 6: Biofloc y agua clara utilizados en tratamientos	18
Figura 7: Rotulado de los envases de plástico.	19
Figura 8: Biometría final.	23
Figura 9: Fijación de gónadas con el Método de Aceto – Carmín	25
Figura 10: Curva de crecimiento en longitud (mm) para los tratamientos (T-1 y T-2) durante la etapa experimental.	27

Figura 11:	28
Curva de crecimiento en peso (g) para los tratamientos (T-1 y T-2) durante la etapa experimental.	
Figura 12:	31
Variación de temperatura promedio (°C) por tratamiento durante la etapa de inversión sexual	
Figura 13:	32
Oxígeno disuelto promedio (mg/l) por tratamiento durante la etapa de inversión sexual.	
Figura 14:	32
Variación diaria de pH promedio por tratamiento durante la inversión sexual.	
Figura 15:	33
Dinámica de los sólidos sedimentables totales (SST) durante la inversión sexual.	
Figura 16:	34
Variación de amoníaco (NH ₃) (mg/l) durante la inversión sexual.	
Figura	17:
37	
Identificación del sexo mediante observación de gónadas.	

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1:	46
Longitud y peso según sexo de T-1.	
Anexo 2:	48
Longitud y peso según sexo de T-2.	
Anexo 3:	50
Pruebas estadísticas para valores de crecimiento.	
Anexo 4:	51
Pruebas estadísticas para los valores de sobrevivencia	
Anexo 5:	52
Cálculo de valores para prueba de comparación de dos proporciones.	
Anexo 6:	53
Valores promedio de longitud (mm) y peso (g) de muestras utilizadas y por repetición para la identificación del sexo y porcentaje de machos por tratamiento.	

RESUMEN

El presente estudio se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación Piscícola (CINPIS) de la Universidad Nacional Agraria La Molina - UNALM del 04 de noviembre de 2013 al 22 de enero de 2014. Con el objetivo de lograr la masculinización de Tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) se utilizaron 3200 alevines de longitud total inicial promedio de 9.44 mm los cuales fueron alimentados con alimento comercial homogenizado con 60 mg de 17 alfa metil testosterona por kg de alimento a una tasa diaria de alimentación del 30 por ciento distribuida en tres raciones por día durante cuatro semanas. Se comparó la masculinización en dos sistemas de cultivo uno con agua clara (T-1) y otro con biofloc (T-2) utilizando 4 tanques para cada sistema, distribuyendo los peces a razón de 400 individuos por tanque. Se mantuvieron los valores de temperatura y oxígeno disuelto semejantes en los tanques durante la etapa experimental en la cual se realizaron monitoreos diarios de sólidos sedimentables y semanales de amoníaco y nitrógeno amoniacal total. Los resultados obtenidos de crecimiento durante esta etapa fueron de crecimiento en longitud y peso promedio de 19.72 ± 2.64 mm y 0.13 ± 0.07 g para T-1 y 17.89 ± 1.46 mm y 0.09 ± 0.01 g para T-2 respectivamente y de sobrevivencia en la etapa de inversión sexual de 52.25 por ciento para el tratamiento con agua clara (T-1) y 61 por ciento para el tratamiento con biofloc (T-2). Culminada la fase de inversión sexual se trasladó una muestra aleatoria y representativa de cada una de las repeticiones por tratamiento al laboratorio húmedo de acuicultura de la Facultad de Pesquería en donde fueron alimentados *Ad libitum* para su crecimiento durante cinco semanas hasta la evaluación de la inversión sexual mediante el método Aceto-Carmín. La identificación de gónadas de las muestras nos dio como resultado que el 96 por ciento de los individuos fueron machos en ambos tratamientos con un nivel de significancia del 95 por ciento.

Palabras clave: Masculinización, Biofloc, 17- alfa- metil testosterona, *Oreochromis niloticus*, Tilapia gris

ABSTRACT

The present study was realized in the facilities of the Centro de Investigación Piscícola (CINPIS) of the Universidad Nacional Agraria La Molina - UNALM from November 04, 2013 until January 22, 2014. With the target to achieve the masculinization of gray Tilapia (*Oreochromis niloticus*) 3200 fries long used average initial whole of 9.44 mm which were fed by commercial food homogenized with 60 mg/kg on 17 alpha metil testosterone to a valuation of feeding of 30 per cent distributed in three daily rations for four weeks. The masculinization compared in two cultivation systems one with clear water (T-1) and other with biofloc (T-2) using 4 tanks for every system, distributing the fish because of 400 individuals for tank. Similar kept the values of temperature and dissolved oxygen in the tanks during the experimental stage in which daily monitoring of sedimentary solids were realized and weekly of ammonia and entire ammoniated nitrogen. The obtained growth results during this stage were of growth in length and average weight of 19.72 ± 2.64 mm and 0.13 ± 0.07 g for T-1 and 17.89 ± 1.46 mm and 0.09 ± 0.01 g for T-2 respectively and of survival in the stage of 52.25 per cent sexual reversal for the treatment with clear water (T-1) and 61 per cent for the treatment with biofloc (T-2). Reached the phase of sexual reversal moved a sample random and representative of each of the repetitions for treatment to the humid laboratory of aquaculture of the faculty of Fishing where they were fed *Ad libitum* for its growth for five weeks up to the evaluation of the sexual reversal by means of the method Aceto-Carmín. The identification of gonads of the samples gave us like turned out that 96 per cent of the individuals were male in both treatments at a level of significance of 95 per cent.

Key words: Masculinization, Biofloc, 17 - alpha - metil testosterone, *Oreochromis niloticus*, gray Tilapia

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la acuicultura se posiciona a nivel mundial como uno de los sectores de producción de alimentos de origen animal de más rápido crecimiento (SOFIA 2012). Se estima que el valor total en la explotación de la producción acuícola de especies comestibles en 2010 fue de 119400 millones de USD (SOFIA 2012). La tilapia es la cuarta especie de agua dulce a nivel mundial en ser cultivada (FAO, 2012). Su producción a nivel de continente representa el nueve por ciento de su producción total y a nivel nacional es una de las principales especies cultivadas en ambientes continentales en el país, alcanzando en el año 2013 las 3,840 toneladas (Dirección de Acuicultura 2014).

La acuicultura se basa en diversas tecnologías de cultivo entre ellas la del biofloc (TBF), brindando la posibilidad de producción bajo un sistema sin recambio de agua combinando la remoción de los nutrientes presentes en la columna de agua con la producción de biomasa microbiana, la cual puede ser utilizada como alimento para las especies en cultivo (De Schryver *et al.* 2008, Avnimelech *et al.* 2009). Esta tecnología permite una menor utilización de agua en el cultivo, contribuyendo a la reducción de los costos y a un manejo adecuado en la calidad del recurso utilizado.

La producción de tilapia requiere de alevines machos que principalmente provienen de tratamientos de inversión sexual mediante el uso de hormonas masculinas, debido a que esta especie alcanza su madurez sexual antes de la longitud comercial y las hembras pierden energía durante la maduración gonadal en comparación con los machos que trasladan esta energía para el crecimiento. Frente a esto, los objetivos del presente trabajo evalúan la producción de alevines machos de tilapia gris *Oreochromis niloticus* en un sistema de biofloc en términos de porcentaje de alevines machos y sobrevivencia durante la etapa de inversión sexual en comparación a sistemas tradicionales de inversión sexual.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. SISTEMA DE BIOFLOC

El sistema de biofloc consiste en el uso de cultivos bacterianos heterotróficos (Avnimelech, citado por Ladino et al. 2009); utilizando un mínimo de agua de intercambio, el desarrollo posterior y la gestión de la población microbiana a través del ajuste de la relación Carbono: Nitrógeno (C: N) de modo que ésta controla la concentración de nitrógeno inorgánico en el agua.

Las bacterias forman bioflocs, asimilando el Nitrógeno Amoniacal Total (TAN), produciendo proteínas microbianas y permitiendo reciclar la proteína del alimento (Avnimelech et al. 2009, Avnimelech 2011). Los bioflocs, están constituidos por partículas orgánicas en suspensión en el agua o adheridas a las paredes de los estanques de producción acuícola, alcanzando una densidad de 107 ufc/ml (Avnimelech 2007). Dichas partículas engloban el material orgánico particulado sobre el que se desarrollan microalgas, diversos organismos microscópicos (protozoarios, rotíferos, hongos, oligoquetos), junto a otros microorganismos y en especial, una gran diversidad de bacterias heterotróficas (Kubitza 2011).

Este tipo de sistema permite el cultivo intensivo en sistemas cerrados de organismos acuáticos sin incrementar significativamente el uso de agua y tierras lo que minimiza el impacto de la actividad acuícola sobre el ambiente (Serfling, citado por Poleo et al. 2011). La aireación en este sistema de bioflocs es esencial para mantener los niveles de oxígeno disuelto disponible para los peces y bacterias, las cuales se encargan de la eliminación de los complejos nitrogenados de la descomposición aeróbica de la materia orgánica y de la nitrificación; además de ayudar a mantener los sólidos en suspensión que disminuyen las posibilidades de formación de zonas de descomposición anaeróbicas (Poleo et al. 2011). Los aireadores ayudan

a suspender el biofloc en el agua de los estanques, un requerimiento primordial para maximizar el potencial

de reproducción de los microorganismos en los estanques de cultivo. El biofloc al estar suspendido, está a su vez disponible para ser ingerido. La calidad del dispositivo de aireación puede determinar la intensidad y tamaño de flóculo. De este modo se crea un equilibrio entre la velocidad de agregación y la tasa de rotura (Chaignon, citado por Ochieng et al.2014).

Existen algunos factores que afectan a los sistemas de bioflocs (Avnimelech 2007).

1. La producción de los bioflocs depende de la provisión del sustrato orgánico a la comunidad microbiana, proveniente de fuentes externas (alimento suministrado, actividad algal) o por la excreción de los componentes del alimento no utilizado por el pez. En adición, la producción del bioflocs depende de la calidad del sustrato proporcionado, su tasa Carbono: Nitrógeno (C:N), la bio-disponibilidad y otros factores.
2. La asimilación de los bioflocs por los peces depende mayormente de la especie y sus características de alimentación, el tamaño del pez, el tamaño y la densidad del floc. Es posible que la formación del biofloc también dependa de la cantidad y frecuencia de alimentación brindada al sistema.
3. La biodegradación del floc depende de la comunidad microbiana asociada a éste ya sean bacterias, protozoos u otros organismos.
4. Finalmente, todos estos procesos pueden ser afectados por el ambiente y las condiciones operativas como la temperatura, salinidad del agua, tasa de recambio del agua, intensidad de mezcla, entre otros.

2.1.1 DINÁMICA DEL BIOFLOC

Los sistemas intensivos de acuicultura son eficientemente utilizados para el cultivo de tilapia; sin embargo una característica intrínseca de estos sistemas es la rápida acumulación de residuos de alimentos debido a que los peces asimilan del 20 al 30 por ciento de nutrientes provenientes de la alimentación (Avnimelech 2007), materia orgánica y nitrógeno inorgánico, produciendo niveles altos de amonio no ionizado el cual es tóxico para los peces. Los residuos orgánicos generados en la producción (heces, mucus de los peces y residuos de raciones) son desintegrados

y mantenidos en suspensión dentro de los propios tanques, sirviendo como sustrato para el desarrollo de las bacterias heterotróficas. Estas bacterias se encargan de la depuración de la calidad del agua, utilizando compuestos nitrogenados potencialmente tóxicos para los peces (como amonio, nitrito o nitrato) para la síntesis de proteínas y de la biomasa microbiana, que enriquecen los bioflocs (Avnimelech 2011, De Schryver 2008, Ekasari 2010, Kubitza 2011) Esto es posible debido a que las bacterias heterótrofas se encargan de captar los complejos nitrogenados liberados por los peces y los utilizan en su crecimiento, eliminando de esta manera la toxicidad por amonio y nitritos (Ebeling, citado por Poleo et al. 2011). Para que esto ocurra en forma eficiente, es necesario mantener adecuados niveles de oxígeno, pH y alcalinidad en los tanques de cultivo. Otro punto importante es asegurar una relación C: N próxima a 20:1 en los residuos orgánicos presentes en el agua, lo que se realiza a través de la adición de una fuente de carbono y/o de la alimentación de los peces con ración de bajo contenido de proteína (Asaduzzaman, citado por Ladino et al. 2009, Kubitza 2011). La relación C: N de los residuos dependerá mucho de los niveles de proteína del alimento utilizado. Cuanto mayor sea el porcentaje de proteína, mayor será el contenido de nitrógeno en la ración, resultando en residuos con baja relación C: N (Kubitza 2011). En los sistemas con altos niveles de carbono disponible, en comparación con nitrógeno (relación C: N >15), las bacterias utilizan el carbono para la formación de nuevo material celular, sin embargo, ya que las células microbianas están hechas de proteína, éstas necesitan nitrógeno y utilizan el amonio proveniente del agua (Avnimelech 2011). Esta dinámica se puede observar en la Figura 1 en la cual además de las reacciones generadas por las bacterias heterótrofas también se realizan procesos de fotosíntesis y autótrofos que contribuyen al sistema.



Figura 1: Dinámica del biofloc adaptado de Ulloa (2012).

Los peces excretan nitrógeno amoniacal el cual se encuentra en proporciones directamente relacionada a los niveles de proteína digerible consumida y a la calidad de la proteína, siendo éste eliminado por branquias y riñones principalmente como amonio y úrea (Kaushik 2000; De Croux et al. citado por El- Sherif y El- Feky. 2008). El amoniaco en su forma ionizada es el más tóxico para los organismos acuáticos, ya que se puede difundir fácilmente a través de las membranas celulares y es altamente soluble en líquidos. Puede causar el deterioro del metabolismo, daño a las branquias, hígado, riñón, bazo y tejido de la tiroides en peces, crustáceos y moluscos (Smart, citado por El- Sherif y El- Feky. 2008). La acumulación de NH_4 y NO_2 en el sistema acuático es controlado manteniendo una alta proporción de Carbono: Nitrógeno: Fósforo mediante 3 vías de remoción de desechos nitrogenados en sistemas acuáticos como se observa en la Fig. 1(Ulloa 2012):

- Heterótrofos (Bacterias en general).- Mediante la conversión directa a biomasa bacterial.
- Autotrófico (Nitrobacterias).- Mediante el ciclo de nitrógeno, nitrificación, desnitrificación (amonio-nitrito-nitrato).
- Foto autotrófico (Fitoplancton-Algas) aguas verdes.- Mejora el crecimiento-fotosíntesis y retira el nitrógeno.

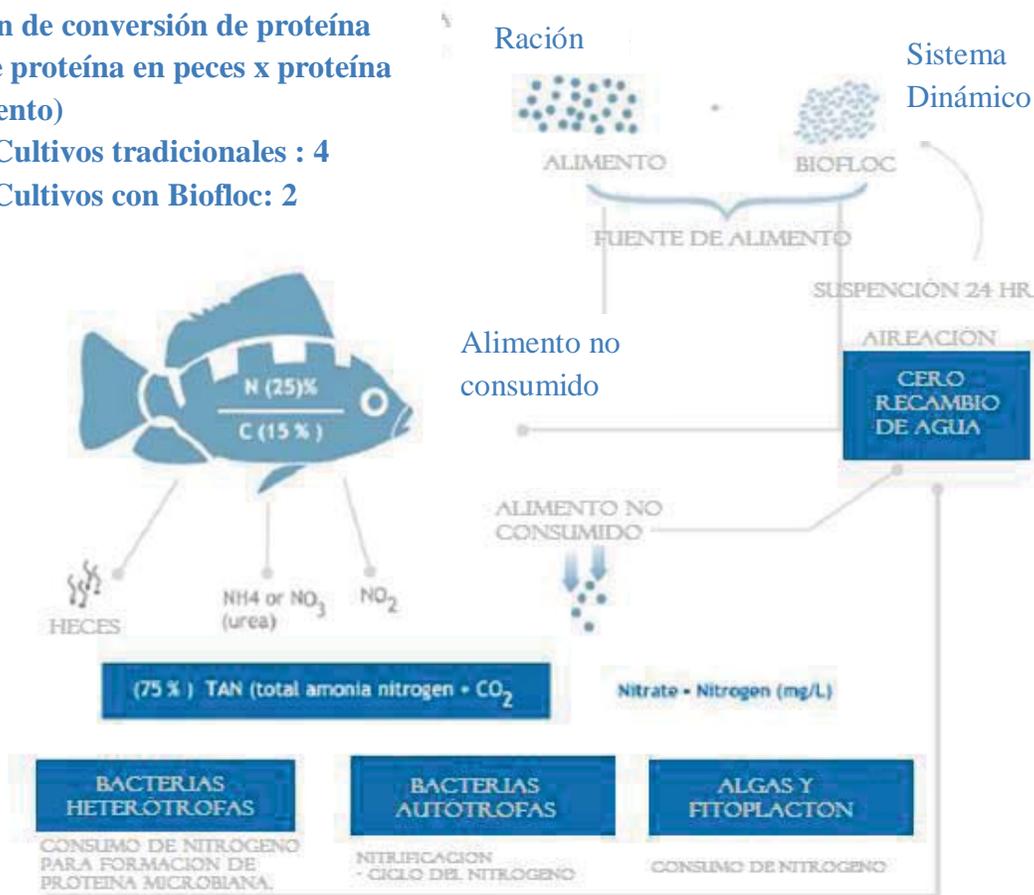
Las relaciones físico-químicas favorecen la formación de comunidades microbianas siendo los factores que posiblemente influyen en esta formación la temperatura, pH, turbulencia, oxígeno disuelto, carga orgánica entre otros (Ochieng et al. 2014).

Los procesos desarrollados durante la conversión de proteínas microbianas se pueden observar en la Figura 2, en donde los peces absorben el 25 por ciento de la proteína proveniente del alimento, y del 75 por ciento restante de proteína que es eliminada el 20 por ciento proviene de heces y alimento no consumido, el cual es descompuesto por organismos microbianos bajo condiciones tanto aeróbicas como anaeróbicas (Azim y Litle, citado por Ochieng et al. 2014). El proceso de descomposición de materia orgánica bajo condiciones aeróbicas es más rápido que en condiciones anaeróbicas (Reddy y Patrick, citado por Ochieng

et al. 2014). El 80 por ciento restante de la proteína no absorbida se elimina como úrea o es convertida a NH_4 o úrea siendo eliminado al cuerpo acuático. Este N_2 genera nuevas células bacterianas que ascienden a un 40 a 60 por ciento de la materia orgánica metabolizada. Esto debido a que la utilización de proteínas se eleva a un 45 por ciento en estanques de biofloc en comparación al 15 a 25 por ciento en estanques convencionales sin uso de biofloc (Avnimelech et al. 2009; Avnimelech 2011). Gracias a éstos procesos de conversión, las bacterias presentes en el biofloc generan como un sub producto de su metabolismo entre 60 a 600Kg. $\text{ha}^{-1} \text{ día}^{-1}$ de proteína para los peces (Avnimelech, citado por Ochieng et al. 2014). Lo cual genera que la proteína provista por el alimento sea consumida dos veces; en el alimento y en los microorganismos (Avnimelech *et al.* 2009).

Relación de conversión de proteína (1Kg de proteína en peces x proteína en alimento)

- Cultivos tradicionales : 4
- Cultivos con Biofloc: 2



Consumo de nitrógeno

Figura 2: Procesos de conversión de proteína en un sistema de biofloc.
Adaptado Ulloa (2012)

2.1.2 VENTAJAS DEL USO DE UN SISTEMA DE BIOFLOC

Los sistemas de biofloc poseen una gran ventaja en comparación con otros sistemas cerrados debido a que puede ser producido de una manera sostenible reduciendo los costos de bombeo de agua (Martínez 2008; Kuhn et al. 2011), se mejora el aprovechamiento de nutrientes lográndose la obtención de un factor de conversión de 1:1 (Ulloa 2012) en donde se utilizan menores cantidades de alimento (Avnimelech 2007) en comparación de otros sistemas los cuales emplean 20 Ton/año/reactor de alimento (Ulloa 2012), se reduce el volumen de los efluentes, se previene la entrada de contaminantes biológicos y patógenos dado que el biofloc contiene suficiente proteína, lípidos, hidratos de carbono y ácidos grasos, que garantizan la bioseguridad protegiendo así a los peces de la variedad de enfermedades infecciosas (Ochieng et al. 2014), además de minimizar el escape de los peces de cultivo al ambiente (Martínez 2008; Hargeaves, citado por Poleo et al. 2011).

2.1.3 USO DE BIOFLOC EN CULTIVO DE TILAPIA

El cultivo de peces en sistemas de biofloc es una derivación de los sistemas de recirculación de agua, en los que no se utilizan ni filtros mecánicos, ni biológicos convencionales y tampoco se hace uso de recirculación. El cultivo de tilapia bajo un sistema de biofloc promueve la alta producción, control de la calidad del agua y la reutilización de la proteína (Little, citado por Ochieng et al. 2014).

La tecnología de biofloc ha demostrado ser potencialmente efectiva para el cultivo de tilapia. Esto debido a que el biofloc puede ser una fuente de alimento ya que los hábitos alimenticios de la tilapia permiten el consumo de la proteína microbiana generada (Castillo, citado por Ladino et al. 2009), contribuyendo con casi el 50 por ciento del rendimiento de proteína en la tilapia (Avnimelech 2007) observándose que los valores nutricionales del biofloc son mejores que los proporcionados por los pellets (Jauncey, citado por Ochieng et al. 2014). Permitiendo obtener una producción neta de 45 por ciento más alta en comparación con cultivos sin biofloc (Azim, citado por Lujan 2011) pudiéndose cosechar una biomasa de tilapia de hasta 200 a 300 ton/ha (Avnimelech 2007) y observándose crecimientos de 0.5 a 800g en menos de seis meses bajo este sistema (Zimmermann 2010).

2.2. CULTIVO DE TILAPIA

2.2.1 ASPECTOS GENERALES

La tilapia gris o tilapia del Nilo es una especie tropical (FAO 2009), omnívora y pez endémico originario de África y el cercano Oriente, es de fácil manejo, posee alta resistencia a enfermedades y presenta una alta productividad (Castillo 2001). La ventaja principal de la tilapia es su bajo costo de producción, gran adaptabilidad, calidad de carne, fortaleza, fácil reproducción y una rápida tasa de crecimiento llegando al peso comercial en un menor intervalo de tiempo en comparación a otras especies (Logato et al.2004; Gómez. citado por Rodríguez, 2012).

La tilapia se alimenta de fitoplancton, perifiton, plantas acuáticas, pequeños invertebrados, fauna béntica, desechos y capas bacterianas asociadas al detritus, pudiendo filtrar el alimento que atrapa en las mucosas de la cavidad bucal (FAO 2009). Alcanza la madurez sexual rápidamente generando una reproducción no deseada ocasionando superpoblación y bajas ganancias de peso (Blázquez; citado por Botero et al. 2011). Empleando su energía en productos sexuales y no en la producción de músculo además la hembra incuba los huevos ya fecundados en su boca en un período en el cual no se alimenta (Arboleda 2005). Las características aparentemente positivas de las tilapias como la maduración precoz, la facilidad de reproducción, la realización de puestas frecuentes y múltiples y el elevado nivel de cuidados parentales pueden formar también parte de la base de muchos desafíos que se presentan en los sistemas tradicionales de reproducción de semilla de tilapia (Prieto et al. 2002).

En la mayoría de las especies de peces existentes en el mundo, la hembra presenta un mejor desempeño con relación al macho, pero sucede lo inverso con la tilapia. Independientemente de la especie o línea de tilapia, la hembra invierte más energía en reproducción

y no para el crecimiento y, por ello, los machos crecen más que las hembras y al doble de velocidad, llegando a alcanzar un peso de 30 a 50 por ciento mayor (Castillo 2001; Popma, citado por Logato et al. 2004; FAO 2009). La reproducción incontrolada que conduce a sobrepoblación frena el crecimiento en los tanques de engorde y la reproducción en los tanques de reproducción (Prieto et al. 2002).

Una mayor proporción de hembras en el cultivo semi intensivo o intensivo, incrementa el factor de conversión alimenticio y ocasiona poblaciones con longitudes heterogéneas en los estanques, por lo que es conveniente trabajar sólo con progenies masculinas (Torres et al, 2010). La producción comercial de tilapia generalmente requiere del uso de poblaciones macho mono sexadas (FAO 2009). Por este motivo la inversión sexual de la tilapia es una etapa muy importante para su cultivo; esto se efectúa cuando los alevines no han desarrollado el sexo fenotípico, debido a que este puede ser manipulado por administración de hormonas esteroides, ya sea por suplementos alimentarios, por inmersión o por transferencia sistémica (Haniffa, citado por Botero et al. 2011).

2.2.2 INVERSIÓN SEXUAL

El método de inversión sexual es la técnica de manipulación genética no transgénica (Hahn et al.2012). La determinación sexual, es el resultado de la unión de las células sexuales del macho y de la hembra dando lugar a la recombinación de los cromosomas sexuales de los progenitores. Durante la ontogenia del aparato reproductor se presenta un período indiferenciado en el cual el sexo está preestablecido, pero no es evidente (Devlin, citado por Torres et al. 2010). En la fase inicial de desarrollo tanto machos como hembras producen los mismo esteroides, la diferencia está en la capacidad de la diferenciación sexual (Rowell, citado por Hahn et al. 2012). El periodo de indiferenciación fenotípica de la tilapia ocurre hasta los quince días después de la eclosión, lo que ha permitido la utilización de técnicas de inducción hormonal para el cambio fenotípico del sexo (Hepher, citado por Botero et al. 2011). La testosterona (hormona sexual masculina) y los andrógenos atraviesan fácilmente la membrana celular y se unen a receptores intracelulares específicos (Almeida 2014). En la producción comercial de tilapias el proceso más utilizado para la obtención de

progenies mono sexo, es la inversión sexual. Este procedimiento consiste en la aplicación de hormonas a las dietas de las larvas y alevinos antes de su diferenciación sexual (a nivel de gónada). Uno de los limitantes en el proceso de reversión sexual, es obtener una adecuada cantidad de post larvas sexualmente indiferenciadas para iniciar el tratamiento hormonal correspondiente (Prieto et al. 2002).

El medio ambiente tiene una gran influencia sobre la determinación del sexo, siendo el factor más importante la temperatura, especialmente en especies termo sensitivas en los que están incluidos los cíclidos, lo que indica una fuerte interacción entre la temperatura y el genotipo (Sexo determinado por la temperatura) (Almeida 2014).

En la Tabla 1 se muestran resultados obtenidos de masculinización utilizando distintos tipos de hormonas en el alimento suministrado a tilapias durante la etapa de inversión sexual por diversos autores; en el cual se puede observar que el rango de masculinización obtenido utilizando hormonas en el alimento es de 55 a 100 por ciento dependiendo de la especie, tiempo y dosis suministrada.

2.2.3 HORMONA 17 METIL TESTOSTERONA

La hormona androgénica más utilizada es la 17 alfa-metil testosterona (Daza et al. 2005). La cual es un producto sintético, inactivado por la luz ultra violeta del sol y por altas temperaturas (mayores a 60°C) (Meyer et al. 2003, FAO 2009). La 17 alfa-metil testosterona es un derivado especial de la testosterona porque conserva su acción androgénica y es activa por vía oral (Almeida 2014).

En varias especies de peces es utilizada la reversión sexual inducida por hormonas esteroides (Hunter, citado por Wassermann 2002, citado por Botero et al. 2011). La hormona 17 alfa metiltestosterona es el andrógeno que más se emplea en los procesos a escala comercial, por las ventajas que presenta este fármaco, como es la inmediata disolución de sus cristales en el alcohol.

Tabla 1: Resultados de masculinización obtenidos de la eficiencia de inversión sexual utilizando hormona 17 alfa metil testosterona.

Referencia	Especie	Dosis de esteroide (mg/kg de alimento)	Tiempo de tratamiento (días)	Resultado
Jalbert <i>et al</i> (1974)	<i>O. niloticus</i>	Metil testosterona 40 mg	60	100% machos
Tayamen y Shelton (1978)	<i>O. niloticus</i>	Metil testosterona 60mg/kg de alimento, al 10% de biomasa	25,35 y 59	100% machos
Owusu- Frimpong y Nijjhar (1981)	<i>O. niloticus</i>	50 mg de Metil testosterona/kg	30 a más	cerca de 100%
Mainardes-Pinto <i>et al.</i> (2000)	<i>O. niloticus</i>	60 mg.de Metil testosterona/ kg	3 día de eclosión	98% machos
Hahn <i>et al.</i> (2001)	<i>O. niloticus</i>	60 mg de Metil testosterona / kg de alimento /(40% proteína), 24 + 1°C * 50 mg	21	98% machos
Hahn <i>et al.</i> (2001)	<i>O. niloticus</i>	100 mg/kg de citrato de tamoxifen, 24°C	21	67.75% machos
Logato <i>et al</i> (2004)	<i>O. niloticus</i>	37.5 mg de Metil testosterona/kg (56% de proteína)	35	100% machos
Jay-Yoon <i>et al</i> (1988) Mateen y Ahmed (2007)	<i>O. niloticus</i>	10 mg de Metil testosterona/kg		97% machos
Mateen y Ahmed (2007)	<i>O. niloticus</i>	70 mg de Metil testosterona/kg (40% proteína)	25	95,4% dosis inferiores menor de machos
Yasui <i>et al.</i> (2007)	Tres linajes de <i>O. niloticus</i>	60 mg de Metil testosterona/kg, (27 + 1°C)	28	97% machos
Chakraborty y Banerjee (2009)	<i>O. niloticus</i>	10 mg Metil testosterona/kg	21	100% machos

FUENTE: Adaptado de Hahn *et al.* 2012

Se encuentra aprobada por la FDA de los EE.UU. El 17 alfa metil testosterona (MT), se caracteriza porque poseer el metil en el carbono 17 (Arboleda 2005). La hormona es activa por vía oral y es incorporada en la dieta a razón de 60mg por kilogramo de alimento (Green citado por Pérez 2002).

Cuando la Metil testosterona es suministrada oralmente durante el tratamiento de la reversión química del sexo, el 90 por ciento de la hormona es excretado en las 24 horas siguientes, y solo tres semanas después menos del uno por ciento de la hormona permanece en el cuerpo del pez (Marcillo et al, citado por Arboleda 2005). La hormona modifica directamente las características sexuales secundarias (Fenotipo), y tiene un efecto adicional sobre las gónadas, al afectar su normal desarrollo, pero en ningún momento afecta el genotipo, por lo que los individuos genéticamente mantienen la segregación normal esperada en el momento de la fertilización (Almeida 2014) lo que ocasiona una disparidad de longitudes típica de machos y hembras, pero con menor incidencia de enanismo (Phelps; citado por Castillo. 2001). Sin embargo esta distribución desigual, tanto del alimento como de hormona, da lugar a la formación de jerarquías (Bart, citado por Botero et al. 2011).

- **INVERSIÓN POR ALIMENTO CON HORMONA 17 ALFA METIL TESTOSTERONA**

Los andrógenos permiten el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios; comportamiento reproductor; maduración de los gametos en los machos; los andrógenos también contribuyen al crecimiento general y a la síntesis de proteína tal como acontece en las proteínas miofibrilares, presentado por la mayor masa muscular de los machos en relación a las hembras en muchos de los 38 vertebrados (Marcillo, citado por Almeida 2014). El suministro oral de andrógenos ha permitido producir poblaciones con proporción masculinas del 80 al 100 por ciento, esta variación es probable que se deba a las diferentes cantidades de alimento hormonado que es consumido por los peces, proceso influido principalmente por el procedimiento de alimentación, la competencia por el alimento, la densidad y las características hidráulicas del tanque de cultivo (Torres et al. 2010).

Teniendo en cuenta que los alevines de tilapia recién eclosionados no tienen diferenciado su tejido gonadal y los peces pequeños (menos de 14 mm de longitud) (Meyer et al. 2003) inician su alimentación alrededor de los tres días después de haber reabsorbido todo su saco vitelino, es en este momento en el cual se debe de realizar el proceso de inversión sexual (Arboleda, 2005) suministrando la hormona masculina 17 alfa metil testosterona a las tilapias hembras en el alimento, permitiendo obtener machos fenotípicos (FAO 2009).

Popma y Green (1990) indican que el alimento con hormona debe ser preparado disolviendo 60 miligramos de la hormona 17 alfa metil testosterona en medio litro de alcohol al 95 por ciento por cada kilogramo de alimento balanceado, siendo ésta la cantidad óptima con la cual se obtiene un mayor porcentaje de machos (Popma y Green 1990; Pinto, citado por Arboleda, 2005). Posterior a la elaboración de la solución con hormona, ésta es mezclada con el alimento de manera equitativa para finalmente ser distribuida de manera homogénea sobre una superficie plana que permita la completa evaporación del alcohol a temperatura ambiente en un ambiente protegido de la luz solar.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN

La presente investigación se realizó del 04 de Noviembre de 2013 al 22 de Enero de 2014, la etapa de inversión sexual se desarrolló en las instalaciones de uno de los invernaderos del Centro de Investigación Piscícola (CINPIS) y la fase de crecimiento para la evaluación de gónadas se realizó en el laboratorio húmedo de acuicultura de la Facultad de Pesquería de la Universidad Nacional Agraria La Molina situada en el Distrito de La Molina, Lima – Perú.

3.2 ACONDICIONAMIENTO DEL SISTEMA

3.2.1 ELABORACIÓN DE ALIMENTO CON HORMONA

Para la elaboración del alimento con hormona se empleó la metodología de Popma y Green (1990) empleando 60 mg de hormona diluida en 500 ml de alcohol (etanol al 95%) por cada kilogramo de alimento comercial en polvo de 45 ciento de proteína (PURINA Tilapia) y un tamaño de partícula de 500 micras de diámetro (Figura 3). Para el cálculo de la cantidad de alimento aproximado a utilizar durante el período experimental se utilizó una relación de 250 a 400 g de alimento por cada 1000 alevinos (PRODUCE 2004; Popma, citado por Hahn et al. 2012) elaborándose 2000 g de alimento con hormona, culminando el proceso cuando la mezcla se encontraba sin olor a alcohol (Figura 4). Posteriormente a su elaboración se mantuvo refrigerado durante todo el período experimental para evitar el deterioro de la hormona.



A.- Pesado de alimento



B. Adición de la hormona



C.- Homogenizado de alimento con hormona.

Figura 3: Proceso de elaboración de alimento con hormona, a) pesado de alimento, b) adición de la hormona, c) homogenizado de alimento con hormona.



Figura 4: Proceso de secado

3.2.2 UNIDADES EXPERIMENTALES

a. DESCRIPCIÓN DE UNIDADES EXPERIMENTALES

Para la realización del experimento se utilizaron tanques de cemento previamente recubiertos con pintura epóxica blanca implementados con un sistema de aireación y de calefacción, bajo techo y en un ambiente con temperatura monitoreada.

b. INSTALACIÓN DE UNIDADES EXPERIMENTALES

Para la instalación de las unidades experimentales se procedió a llenar todos los tanques de cultivo a 300 m³ de volumen real realizándoles una marca al nivel indicado. De manera aleatoria se asignó a cada tanque un tratamiento (Figura 5).

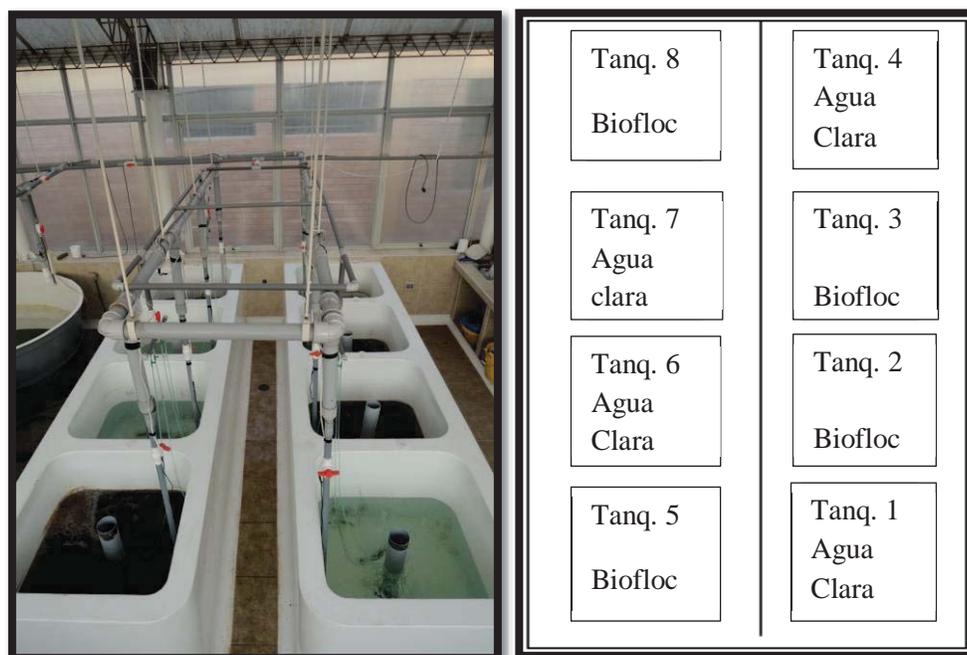


Figura 5: Asignación de tratamientos en las unidades experimentales.

En la Figura 6-a se puede observar el tanque biorreactor, acondicionado un mes antes del presente experimento con tilapias (3Kg /m³) alimentadas sin ningún recambio de agua a una relación 10:1 C: N el cual se obtuvo la proliferación de bacterias dando lugar al biofloc, en la Figura 6-b se observa el tanque de agua clara proveniente de un pozo previamente reposado. Ambos tanques fueron aireados y obtenidos del CINPIS.



Figura 6: Biofloc y agua clara utilizados en tratamientos.

A

B

Luego del llenado de los tanques se colocaron calentadores de 300 watts para mantener la temperatura en los rangos óptimos; también se colocaron dos piedras difusoras de 15 y 20 cm, las cuales fueron conectadas a un blower de 1/3 HP de potencia el cual generó la aireación a los sistemas de cultivo manteniendo en constante movimiento las partículas en suspensión.

3.3 DESARROLLO DEL EXPERIMENTO

3.3.1 ETAPA DE INVERSIÓN SEXUAL

La etapa de inversión sexual se inició con 400 alevines por tanque con peso y longitud promedio de 0.01 g. y 9.44 mm, respectivamente, y culminó luego de cuatro semanas. En esta etapa se suministró el alimento previamente mezclado con hormona a una tasa de alimentación del 30 por ciento en tres raciones (8 am, 12 am y 4 pm) durante cuatro semanas. La tasa de alimentación no fue modificada durante el experimento para garantizar cantidades necesarias para su consumo aún bajo el tratamiento de biofloc (T-2).

Diariamente se realizó el recambio del 10 por ciento y semanalmente del 100 por ciento a los tanques de agua clara (T-1) además del sifoneo de heces y alimento no consumido, a diferencia de los tanques de biofloc (T-2) en los cuales solo se repuso la pérdida de agua por evaporación. Se contabilizó el volumen del agua recambiada para estimar el porcentaje de recambio durante toda la etapa experimental entre tratamientos.

Durante esta etapa se analizaron en el laboratorio de nutrición de la Universidad Nacional Agraria La Molina los valores de proteína en cada uno de los tanques con tratamiento de biofloc. Adicionalmente una vez a la semana se realizaron biometrías que permitieron ajustar la ración diaria según el número de sobrevivientes y crecimiento de los alevines de acuerdo a la siguiente metodología:

a. EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO

Semanalmente se tomó el 10 por ciento de la población inicial, la cual fue pesada para controlar el crecimiento y determinar así la cantidad de alimento a proporcionar (Almeida 2014). Esta muestra consistió de 40 alevines de cada uno de los tanques, los cuales fueron colocados en envases de plástico de un litro de capacidad y rotulados según la procedencia de los alevines tal y como se puede observar en la Figura 7.

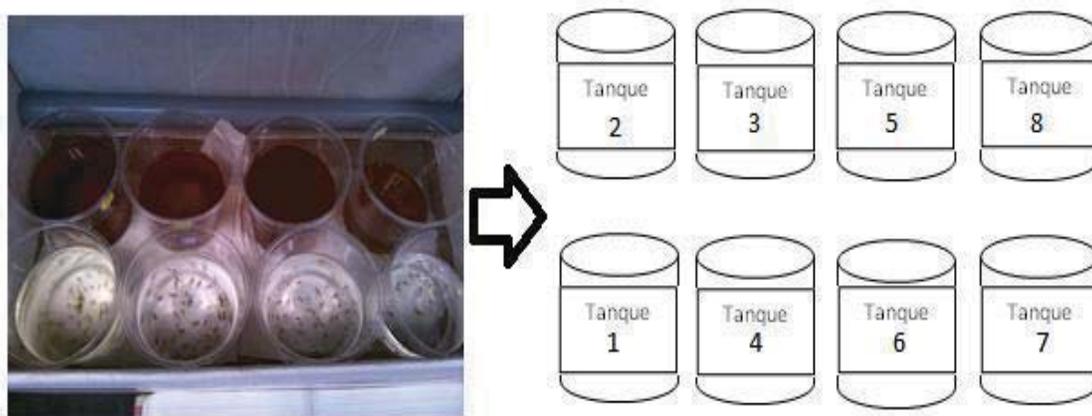


Figura 7: Rotulado de envases de plástico.

Los alevines fueron pesados por grupos de diez en una balanza analítica previamente tarada, posteriormente se registraron los valores de peso según procedencia de alevines y tratamiento. Se utilizó un escalímetro graduado en milímetros para la medición de las longitudes totales las cuales fueron medidas individualmente.

Para evitar problemas por manipulación en los alevines las mediciones fueron realizadas rápidamente. Posterior a la medición en grupo se calculó el peso promedio individual. El incremento de peso se obtuvo con la siguiente fórmula (Cruz-Casallas et al. 2010):

$$\text{Incremento de peso} = (\text{Peso final} - \text{Peso inicial})$$

b. SOBREVIVENCIA

Diariamente se registraron los alevines muertos observados de cada uno de los tanques, sin embargo, estos valores solo fueron referenciales sobretodo en el caso de los tanques con biofloc (T-2) debido a que la turbidez propia del tratamiento no permitió visualizar a los alevines muertos. Al finalizar el experimento se contabilizaron los alevines totales de cada uno de los tanques; con esta información se pudo obtener la tasa de sobrevivencia de acuerdo a la siguiente fórmula (Poleo et al. 2011):

$$\text{T. supervivencia (\%)} = (\text{N}^\circ \text{ de individuos finales} \times 100) / \text{N}^\circ \text{ de individuos iniciales}$$

c. CALIDAD DE AGUA

El control de la calidad de agua de los tanques se realizó diaria y semanalmente antes de proporcionar la alimentación a los peces para luego proceder a la alimentación según los tres turnos de alimentación. Este monitoreo en la calidad del agua nos permitió manejar los parámetros adecuados para la inversión sexual, además de conocer el estado del biofloc.

A los tanques del tratamiento de agua clara (T-1) se les realizó un recambio diario y semanal del 10 y 100 por ciento respectivamente durante cuatro semanas, lo cual permitió mantener el agua libre de algas que influyeran en la alimentación y crecimiento de los peces (Hahn et al. 2012). A los tanques del tratamiento con biofloc (T-2) se les completó el volumen de agua perdida por evaporación, sin realizar algún recambio de agua para este tratamiento; tampoco se le adicionó alguna fuente de carbono durante todo el experimento. Durante la etapa experimental de inversión sexual se realizaron los siguientes análisis de calidad de agua:

- **CONTROLES DIARIOS**

Se realizó el monitoreo dos veces por día a los parámetros descritos en la Tabla 2.

Tabla 2: Parámetros de calidad de agua temperatura (T°), oxígeno disuelto (OD), potencial hidrógeno (pH) y sólidos sedimentables totales (SST) controlados diariamente.

Parámetro	Unidades	Método	Equipo
Temperatura (T°)	°C	Sensor de temperatura	Oxímetro YSI 550
Oxígeno disuelto (OD)	mg/L y % de saturación	Polarográfico	Oxímetro YSI 550
Potencial Hidrógeno (pH)		Electrodo APHA 4500-H+ (B)	Oakton de mesa
Sólidos sedimentables totales (SST)	ml/L	Sedimentación	Cono de Inhoff

- **CONTROLES SEMANALES**

Semanalmente se tomaron muestras in situ del agua de los tanques experimentales para luego ser llevadas a las instalaciones del laboratorio de limnología de la Facultad de Pesquería de la Universidad Nacional Agraria La Molina en donde se procedió con el análisis de los parámetros descritos en la Tabla 3.

Tabla 3: Parámetros de calidad de agua N amoniacal, N nitritos, N nitratos controlados semanalmente.

Parámetro	Unidades	Método	Equipo
N amoniacal	mg/L	APHA 4500-NH3	Espectrofotómetro HACH modelo DR/2500.
N nitritos	mg/L	USEPA	Espectrofotómetro HACH modelo DR/2500.
N nitratos	mg/L	APHA 4500-NH3-E	Espectrofotómetro HACH modelo DR/2500.

3.3.2 EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA INVERSIÓN SEXUAL

a.- CRECIMIENTO

Posterior al análisis de inversión sexual se seleccionó una muestra de cada tanque para permitir su crecimiento hasta los 35 milímetros; trasladándolos al laboratorio húmedo de acuicultura de la Facultad de Pesquería en donde fueron ambientados ocho acuarios de vidrio con agua clara donde se colocó un calentador con termostato y una piedra difusora para mantener la temperatura entre 27 a 28°C y el oxígeno disuelto a saturación. Colocándose un promedio de 25 a 35 alevines por acuario siendo alimentados con una dieta comercial de 45 por ciento de proteína con tamaño de partícula de 1 a 2 mm de acuerdo al tamaño aceptado por los alevines. La alimentación se realizó *ad libitum* en dos turnos (mañana y tarde). Previamente a la ración diaria se realizó el sifoneo de heces y alimento no consumido del día anterior.

b.- IDENTIFICACIÓN DEL SEXO

Para la observación de las gónadas fue necesario el sacrificio de las muestras de cada uno de los tratamientos.

El procedimiento que se utilizó para la observación consistió en los siguientes pasos:

- Se realizó una biometría de longitud total y peso de los individuos (Figura 8) empleando un escalímetro en milímetros y una balanza digital marca OHAUS con capacidad de 300g y 0.1 g de sensibilidad en donde fueron colocados sin agua.



Figura 8: Biometría final

- Para el examen microscópico se procedió al sacrificio de los individuos realizándoles una incisión en la zona dorsal seccionando la médula permitiendo una muerte rápida. Posteriormente se realizó un corte utilizando un bisturí en la zona ventral desde la papila genital hacia la base de la aleta pectoral cuidando que los órganos ni las gónadas fueran perforadas.
- Una vez que los órganos fueron expuestos y las vísceras fueron retiradas se agregó de 1 a 2 ml de formalina al 10 por ciento a las gónadas para cubrirlas, permitiendo así la fijación de los tejidos gonadales.

- Las gónadas fueron retiradas de la cavidad abdominal y colocadas en un porta objetos, luego se les agregó unas gotas de Aceto – Carmín (Figura 9) según el método de Wasserman (2002).
- Las gónadas coloreadas fueron observadas al microscopio para la observación del tejido ovárico, testicular o ambos, clasificándose a los individuos en: hembra, macho o inter sexo según sea el caso.

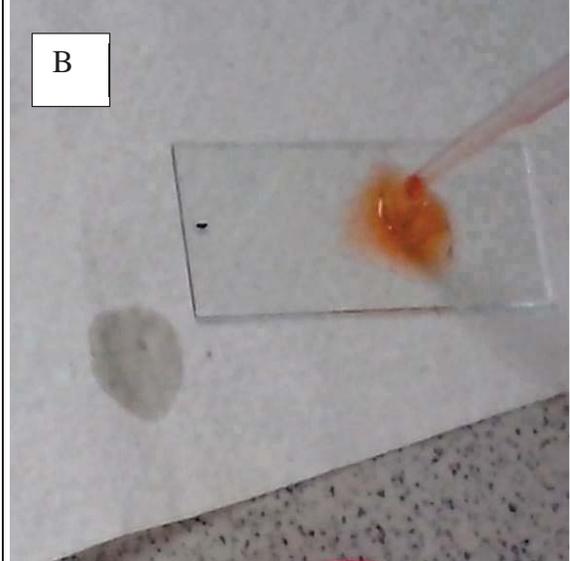
 <p>A</p>	 <p>B</p>
<p>A.- Colocación de gónadas en láminas porta objetos</p>	<p>B.- Coloración de gónada con Aceto - carmín para su posterior observación al microscopio.</p>
 <p>C</p>	<p>C.- Luego de 2 minutos de la tinción de gónadas con Aceto - carmín, éstas son observadas microscopio para la determinación del sexo según células sexuales.</p>

Figura 9: Fijación de gónadas con el Método de Aceto – Carmín, a) gónadas en láminas, b) tinción con aceto carmín, c) luego de dos minutos gónadas identificadas listas para su observación al microscopio. (Wasserman 2002),

DISEÑO ESTADÍSTICO

3.4.1 CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

Debido a la naturaleza de los resultados, éstos fueron analizados utilizando la prueba de t de student utilizando la opción de análisis de datos del programa Excel de Microsoft 2007. Para el análisis de sobrevivencia se utilizaron los valores iniciales y finales del experimento para cada uno de los tratamientos.

3.3.3 EVALUACIÓN DE INVERSIÓN SEXUAL

La evaluación de la inversión sexual se realizó a un tamaño de muestra determinado con un margen de error de no más del siete por ciento y un riesgo del cinco por ciento mediante la prueba de comparación de dos proporciones encontrándose la proporción sexual entre los T-1 y T-2 de acuerdo a la siguiente fórmula (Departamento de Estadística e Informática 2008).

$$Z \text{ calculado} = \frac{p1 - p2}{pq \left(\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2} \right)}$$

Donde:

- p1: Proporción de machos de tratamiento agua clara (T-1).
- p2: Proporción de machos de tratamiento biofloc (T-2).
- q = 1 - p
- n1: Número total de alevines tratamiento agua clara (T-1).
- n2: Número total de alevines tratamiento biofloc (T-2).

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE ALEVINES

4.1.1 CRECIMIENTO

Los resultados de longitud y peso promedio al finalizar la inversión sexual fueron de 19.72 ± 2.64 mm y 0.13 ± 0.07 g y 17.89 ± 1.46 mm y 0.09 ± 0.01 g para T-1 y T-2 respectivamente; no se observaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre ambos tratamientos. Las Figuras 10 y 11 muestran las curvas de crecimiento en longitud y peso por tratamiento durante la etapa experimental. La variación de crecimiento total (longitud y peso promedio) fue de 8.397 ± 3.65 mm y 0.112 ± 0.05 g y 6.433 ± 2.87 mm y 0.068 ± 0.03 g para T-1 y T-2 respectivamente.

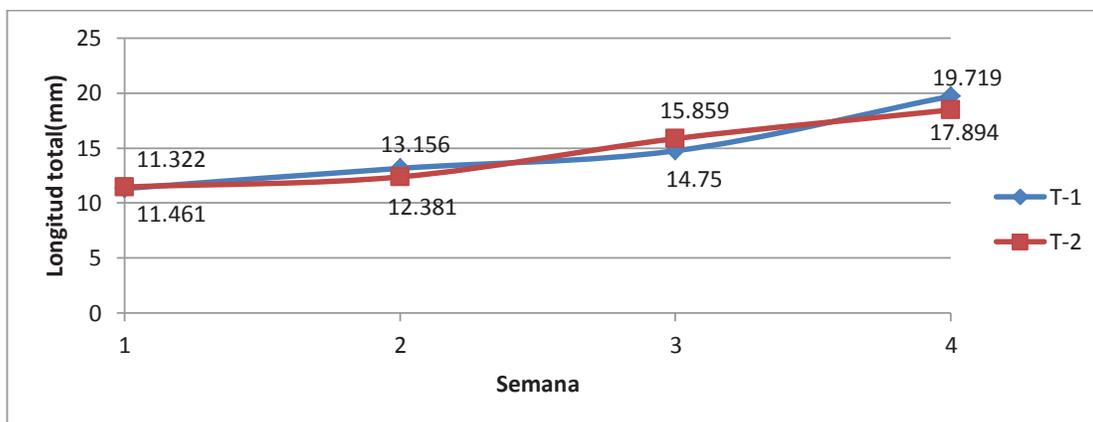


Figura 10: Curva de crecimiento en longitud (mm) para los tratamientos (T-1 y T-2) durante la etapa experimental.

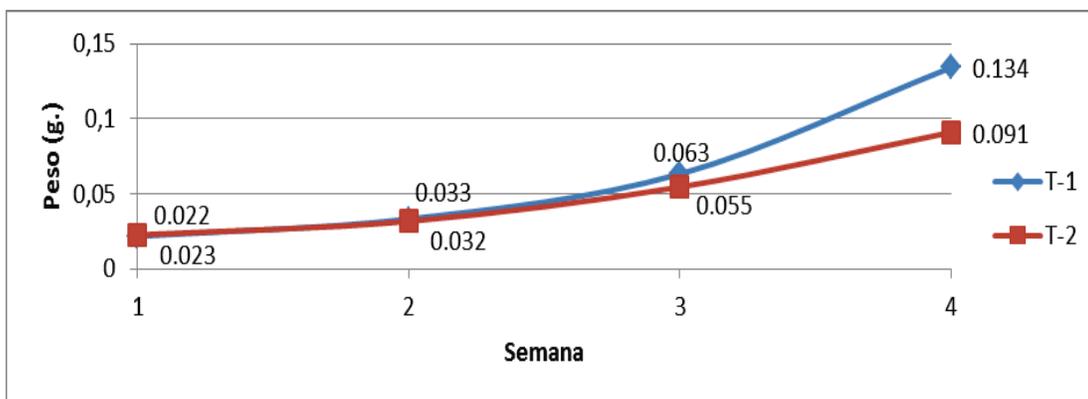


Figura 11: Curva de crecimiento en peso (g) para los tratamientos (T-1 y T-2) durante la etapa experimental.

Los resultados de las Figuras 10 y 11 a pesar de no presentar diferencias significativas ($p \geq 0.05$) muestran que los valores promedio de crecimiento de T-1 de las dos últimas semanas son mayores en comparación a los valores observados de T-2 lo cual podría indicarnos que hubo un mejor crecimiento en T-1 durante la etapa experimental. Esto podría deberse a una mayor alimentación del biofloc en el T-2 reflejado en la caída de SST (Figura 12) para este período el cual pudo haber sido fácilmente consumido por el tamaño de partícula menor al recomendado para esta etapa (Nakaghi et al. 2009; Avnimelech 2011) y su continua disponibilidad en comparación a la del alimento formulado (Avnimelech 2011) con una tasa de alimentación constante y su entrega en tres raciones diarias. Sin embargo es posible que el biofloc con un contenido de proteína entre 20 y 29 por ciento (Tabla 4) pudo no haber proporcionado los valores recomendados de proteína cruda del 50 por ciento para el crecimiento de herbívoros/omnívoros como la tilapia (Webster y Lim, citado por Ochieng et al. 2014).

Tabla 4: Valores de proteína (Nitrógeno * 6.25) del biofloc en los cuatro tanques experimentales con tratamiento de biofloc.

N° Tanque	Contenido de nitrógeno (%)	% Proteína N*6.25
2	3.612	22.58
3	4.354	27.21
5	4.788	29.93
8	4.354	27.21

4.1.2 SOBREVIVENCIA

Los resultados de sobrevivencia durante el período experimental de inversión sexual para el T-1 y T-2 fueron de 52 ± 24.5 y 61 ± 19.01 por ciento, respectivamente, tal como se puede observar en la Tabla 4, estos no mostraron diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Los valores obtenidos son menores a los registrados por diversos autores los cuales obtuvieron valores de 70 a 99 por ciento de sobrevivencia (Watanabe *et al.*, citado por Castillo 2001; Popma y Green. 1990; Kubitza 2011). Esto se podría deber a que durante la etapa de inversión sexual, momento en el cual los alevines son más propensos a altas mortalidades en comparación con otras etapas, se realizó una excesiva manipulación de los alevines para la obtención de datos biométricos semanales, así como recambios totales realizados en el caso de T-1, ocasionándoles estrés y posiblemente muerte. Esto pudo observarse sólo al final de la etapa experimental al hacer el conteo total de individuos por tanque y tratamiento.

Tabla 5: Tasa de sobrevivencia de la inversión sexual.

Tratamiento	T-1	T-2
N° peces inicio	400	400
N° peces final	209	244
Tasa de sobrevivencia (porcentaje)	52.25(a)	61(a)

(a) Letras iguales no muestran diferencias significativas.

a.- PARÁMETROS DE CALIDAD DE AGUA

En la Tabla 5 podemos observar los parámetros de cultivo, los cuales no mostraron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) para ambos tratamientos. La temperatura promedio para el T-1 y T-2 fueron $28.11 \pm 1.04^\circ\text{C}$ y $27.86 \pm 0.45^\circ\text{C}$ respectivamente; observándose una variación promedio de $0.25 \pm 0.18^\circ\text{C}$ entre ambos tratamientos. Los valores promedio de oxígeno disuelto para el tratamiento con agua clara (T-1) fueron $7.45 \pm 0.24\text{mg/l}$ y para el tratamiento con biofloc (T-2) fueron de $7.38 \pm 0.12\text{ mg/l}$, éstos valores de oxígeno disuelto

hallados durante el experimento fueron óptimos para la especie. Los resultados de pH promedio durante la investigación se encuentran en el rango de 8.34 ± 0.05 y de 8.25 ± 0.08 para T-1 y T-2 respectivamente siendo éstos valores aceptables para la etapa de inversión sexual en tilapias (Boyd, citado por Borrovich 2010). Debido a que los valores de temperatura, pH y oxígeno se encontraron dentro de los rangos óptimos en ambos tratamientos durante la inversión sexual es posible indicar que éstos parámetros no afectaron en el crecimiento así como en la mortalidad de los peces haciendo posible la utilización de un sistema de biofloc (sistema cerrado) para la inversión sexual con la ventaja de una menor utilización en el consumo de agua.

Tabla 5: Valores promedio, máximo, mínimo y desviación estándar para cada tratamiento (T-1 y T-2) durante el periodo experimental de los parámetros de temperatura (°C), oxígeno disuelto (OD) y potencial hidrógeno (pH).

		Temperatura (°C)	Oxígeno (mg/l)	pH
T-1	Promedio	28,11 ^a	7,45 ^b	8,34 ^c
	Máximo	30.09	8.08	8.45
	Mínimo	26.9	6.59	8.25
	Desviación estándar	1,04	0,24	0,05
T-2	Promedio	27,86 ^a	7,38 ^b	8,25 ^c
	Máximo	29.6	7.03	8.67
	Mínimo	26.41	6.59	8.01
	Desviación estándar	0,45	0,12	0,08

Valores con la misma letra no muestran diferencias significativas.

- **TEMPERATURA (°T)**

Las temperaturas mínimas y máximas de ambos tratamientos se encontraron dentro del rango óptimo de 25 a 35°C (Boyd, citado por Pérez. 2002; Alamilla; citado por PRODUCE 2004; Ramos et al. 2006) y por debajo de los rangos superiores letales de 38,5 - 42°C (FAO 2009; Baras, citado por Hahn et al. 2012). En los tratamientos se observaron variaciones de temperatura (Figura 12) probablemente debido a la ubicación de los tanques, los cuales se encontraron en algunos casos, cerca de una ventana del invernadero en la cual incidieron directamente los rayos solares generando un aumento de la temperatura de alguno de los

tanques del sistema de cultivo, sobre todo en los tanques de agua clara los cuales presentan valores máximos de temperatura de 30.09 °C y una mayor desviación estándar de 1.04.

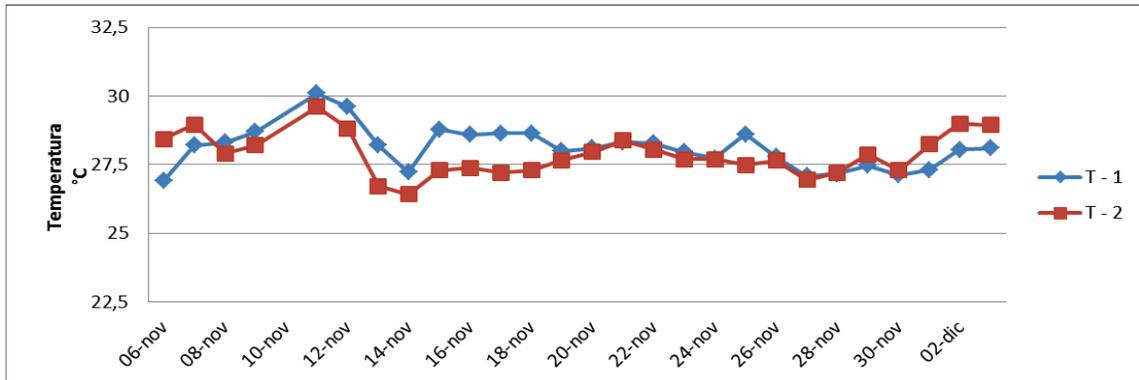


Figura 12: Variación de temperatura promedio (°C) por tratamiento durante la etapa de inversión sexual.

Durante el periodo experimental debido a que la temperatura promedio para ambos tratamientos se encontraba entre 27 a 30°C es posible indicar que la temperatura no fue un factor que influyera en el desarrollo del biofloc (Avnimelech 2009).

- **OXÍGENO DISUELTO (OD)**

Para el tratamiento con agua clara (T-1) se registraron valores máx. 8.08 mg/l y mín. 6.59 mg/l y para el tratamiento con biofloc (T-2) valores Máx. 7.03 mg/l y Mín. 6.59 mg/l, tal y como se puede observar en la Figura 13 y en la Tabla 5. Los valores registrados para los tratamientos T-1 y T-2 se encuentran dentro del rango de 6.38mg/l a 8.44mg/l valores que permiten obtener un adecuado crecimiento de los peces durante la etapa de inversión sexual (Pérez 2002).

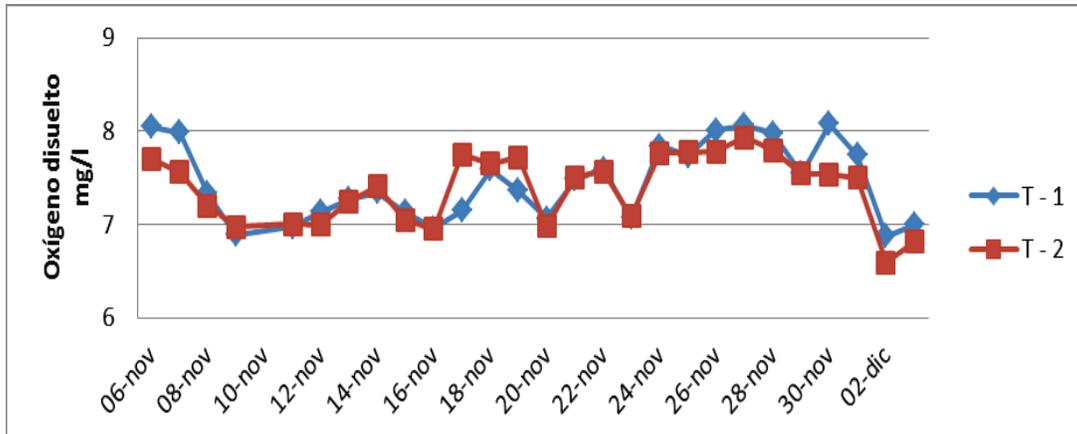


Figura 13: Oxígeno disuelto promedio (mg/l) por tratamiento durante la etapa de inversión sexual.

El oxígeno en promedio durante la etapa experimental se mantuvo siempre sobre los 4mg/l permitiendo un adecuado ritmo metabólico y consumo de alimento constante (Ramos 2006; Espejo 2012). Las variaciones de temperatura afectan directamente la tasa metabólica, mientras mayor sea la temperatura, mayor será la tasa metabólica aumentando el consumo de oxígeno (Poot, citado por Pallares et al. 2012).

- **Potencial hidrógeno (pH)**

Los valores de pH promedio fueron de 8.34 y 8.25 para T-1 y T-2 respectivamente lo cual se puede observar en la Figura 14. Éstos se encontraron dentro del rango aceptable para *O. niloticus* (Boyd, citado por Borrovich 2010).

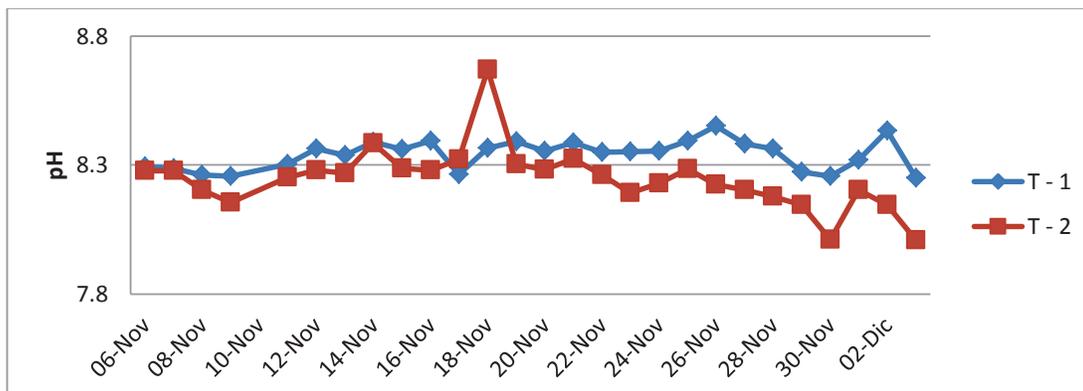


Figura 14: Variación diaria de pH promedio por tratamiento durante la inversión sexual.

Borrovich (2010) registró valores diarios promedio de pH por debajo de 9 para el tratamiento con temperatura elevada y aireación constante y valores por encima de 9 para el tratamiento con temperatura ambiental sin aireación permanente. Los valores registrados durante el presente experimento para ambos tratamientos se encontraron por debajo de 9, éstos se mantuvieron con temperaturas promedio de 28.11 para T-1 y 27.86 para T-2 en los cuales la aireación mecánica fue constante durante todo el experimento.

- **Sólidos sedimentables totales (SST)**

Los valores mínimos y máximos promedio registrados de SST fueron de 12.44 y 23.13 ml/l respectivamente. Observándose en la Figura 15 que durante la etapa experimental existieron caídas en los valores promedios probablemente a la ausencia de oxígeno durante un período de 2 horas aproximadamente debido a la suspensión de la aireación para la captura de los peces durante la biometría interrumpiendo los procesos de la comunidad bacteriana en el biofloc. Los incrementos después de estas disminuciones se dan debido al incremento de la ración (nueva biomasa) y de las condiciones de aireación que permiten la suspensión y generación de nuevos sólidos semana a semana, sin embargo, se observa que durante la última semana experimental los valores de sólidos disminuyeron probablemente a un mayor consumo por parte de los alevines y a una demanda de carbono exógeno en el sistema ya que no fueron adicionadas fuentes externas de carbono. No se cuenta con valores del día 11 de noviembre debido a problemas externos al experimento.

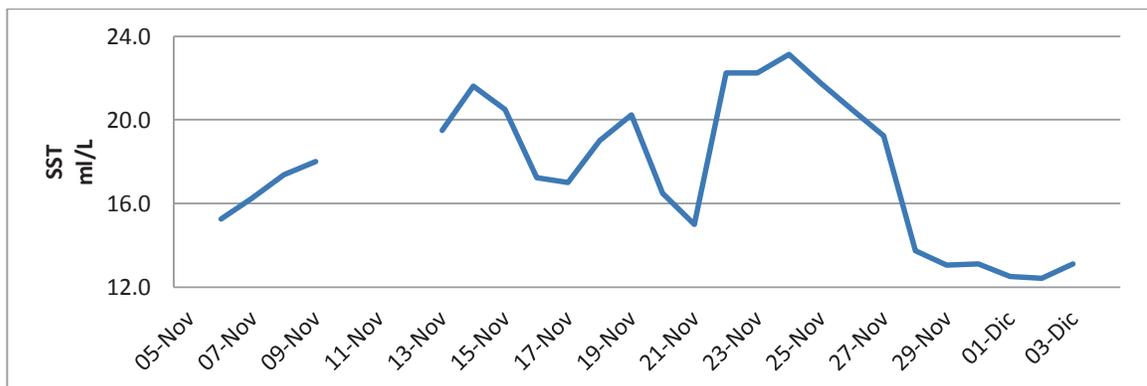


Figura 15: Dinámica de los sólidos sedimentables totales (SST) durante la inversión sexual.

- **Amoníaco (NH₃)**

Los valores de NH₃ fluctuaron entre 0.10 a 0.28 mg/l y 0.32 a 0.79 mg/l para T-1 y T-2 respectivamente encontrándose por debajo del límite crítico de 2 mg/l (FONDEPES 2004). La falta de adición de fuente de carbono externa afecto de manera significativa ($p \leq 0.05$) la dinámica del biofloc entre ambos tratamiento durante la etapa experimental, reflejándose en la variación de NH₃ (Figura 16), siendo un producto de excreción que en su forma no ionizada es un elemento tóxico. Estos valores de NH₃ al no encontrarse dentro del rango óptimo de cultivo entre 0.01 y 0.1 mg/l (FONDEPES 2004) podrían haber generado una reducción en el crecimiento de los alevines lo cual explicaría que en el caso de T-2 el crecimiento fuera menor numéricamente en comparación a T-1. Los valores más altos observados corresponden a los tanques de T-2 durante la tercera semana en la cual existe una diferencia numérica en el crecimiento entre tratamientos.

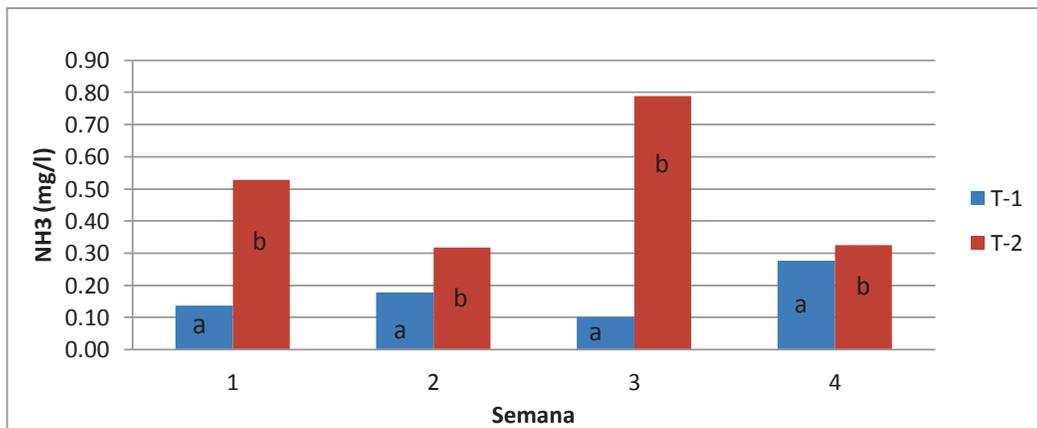


Figura 16: Variación de amoníaco (NH₃) (mg/l) durante la inversión sexual.

Letras distintas entre tratamientos indican diferencias significativas.

4.2 VALUACIÓN DE LA INVERSIÓN SEXUAL

Posterior al tratamiento hormonal y luego de cinco semanas se observó que el peso y longitud promedio total de los peces en las muestras del tratamiento T-1 fue de 5.24 g y 67 mm y del tratamiento T-2 fue de 4.77 g y 60.5 mm respectivamente (Anexo 6). Observándose que las hembras, machos e intersexo de ambos tratamientos tuvieron una longitud promedio similar (Tabla 7).

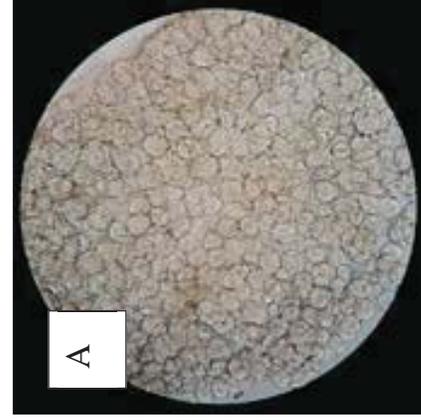
En las muestras observadas se encontraron cuatro hembras, un intersexo, y 123 machos para el T-1 y cinco hembras, dos intersexos y 143 machos para el T-2 (Figura 17) obteniéndose un 96 por ciento de machos para cada tratamiento y uno por ciento de intersexos para ambos tratamientos sin existir diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre ambos. Debido a que los individuos intersexo no tienen la capacidad de reproducirse (Popma y Green 1990) es posible adicionar al valor de masculinización obtenido el uno por ciento de intersexos de T-1 y T-2 resultando un valor de 97 por ciento promedio de masculinización para ambos tratamientos. Encontrándose dentro del rango de 95 a 100 por ciento de machos esperados (Pérez 2002; Martínez, citado por Castillo 2001; Marcillo, citado por Arboleda 2005).

El valor promedio obtenido de 97 por ciento de masculinización entre ambos tratamientos difiere a resultados mencionados por otros autores de hasta valores del 100 por ciento, siendo atribuida esta diferencia al número de raciones entregadas (tres) en la inversión sexual recomendándose un mayor número de raciones para una mayor distribución del alimento y una mejor eficiencia (Landívar 1989; Meyer *et al.* 2003; Logato *et al.* 2004; Carrió, citado por Almeida 2014). Teniendo en cuenta la importancia del tiempo y forma de distribución del alimento.

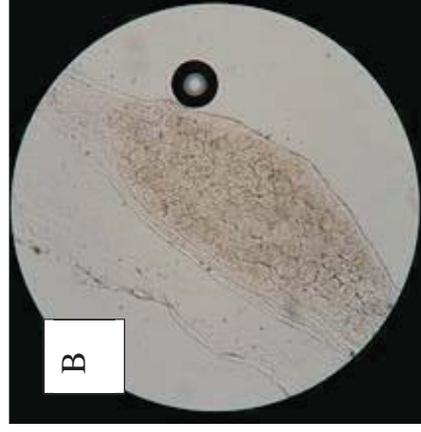
Finalmente podría indicarse que es posible realizar la inversión sexual de alevines de tilapia gris bajo un sistema de biofloc obteniendo valores de masculinización aceptables y con longitudes promedio similares a los de un cultivo con agua clara, sin embargo, es importante manejar una adecuada relación Carbono: Nitrógeno que permita el desarrollo y estabilidad del biofloc así como también una entrega del alimento en mayor cantidad de raciones diarias que permitan asegurar su consumo obteniendo mejores porcentajes de masculinización

Tabla 7: Peso promedio (g) y longitud total promedio (mm) de acuerdo al sexo por tratamiento.

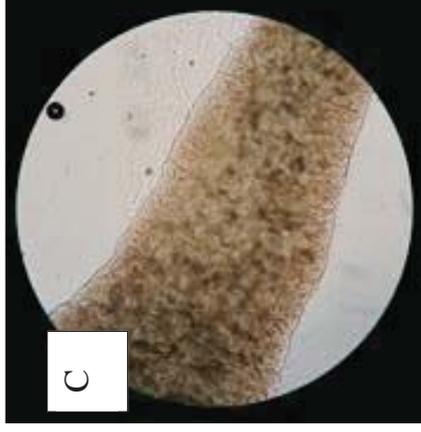
	Hembra T-1: 4 T-2: 5	Intersexo T-1: 1 T-2: 2	Macho T-1: 123 T-2: 143
T-1	Promedio	2,4	4,88
	Máximo	2,4	16
	Mínimo	2,4	1,4
	Desviación estándar		2,75
	Promedio	5,3	6,58
	Máximo	5,3	10
	Mínimo	5,3	4,8
	Desviación estándar		1,13
T-2	Promedio	6,95	4,55
	Máximo	8,1	18,4
	Mínimo	5,8	1,4
	Desviación estándar	1,63	2,75
	Promedio	6,95	6,00
	Máximo	8,1	10,5
	Mínimo	5,8	1,5
	Desviación estándar	1,63	1,75



A



B



C

a)Gónada femenina	b)Gónada intersexo	c)Gónada masculina
n1 : 4	n1 :1	n1 : 123
n2 : 5	n2 : 2	n2 :143

Figura 17: Identificación del sexo mediante observación de gónadas.

V CONCLUSIONES

1. No existieron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) en la evaluación de la masculinización entre tratamientos lo cual indica que bajo el sistema trabajado el biofloc no interfiere en la inversión sexual de *Oreochromis niloticus*.
2. Respecto al crecimiento no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo, numéricamente existió un menor crecimiento en los alevines de T-2 en comparación con los de T-1 después de la segunda semana de tratamiento, debido posiblemente al consumo del biofloc y alimento balanceado, teniendo el biofloc un contenido de proteína (20 - 29 por ciento) inferior al recomendado para la especie en esta etapa.
3. Los valores de temperatura, oxígeno y pH para los tratamientos T-1 y T-2 se encontraron dentro de los rangos óptimos para la inversión sexual sin afectar los resultados obtenidos de masculinización.
4. Los valores de amoníaco (NH_3) durante el periodo experimental fueron mayores en T-2 que en el T-1. Observándose la necesidad de la adición de Carbono a partir de la segunda semana de inversión sexual para el mantenimiento del sistema de biofloc.
5. El uso de un sistema de biofloc para la etapa de inversión sexual permitió utilizar cuatro veces menos el volumen para el cultivo comparado con un sistema tradicional.

VI RECOMENDACIONES

1. Se recomienda en futuras investigaciones realizar pruebas de densidades para conocer cuál sería la mejor densidad en el Sistema de Biofloc que permita una mayor obtención de alevines machos.
2. Es recomendable analizar los valores nutricionales del biofloc que permita brindarle al sistema la fuente necesaria de carbono y nitrógeno para la producción de proteína microbiana y asegurar una adecuada composición nutricional del biofloc para el cultivo.
3. Se recomienda para la etapa de inversión sexual determinar una adecuada relación de C:N que permita mantener estables los niveles de sólidos sedimentables suspendidos proporcionando las cantidades adecuadas de proteína al sistema y por ende no influya en el crecimiento de los alevines.

VII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, J. 2014. Reversión sexual de tilapia roja (*Oreochromis niloticus*), Utilizando dos tipos de andrógenos comerciales y un testigo (Andriol y proviron) (en línea). Tesis Ing. Acuacultor. Machala. Universidad Técnica de Machala. 49 p. Consultado 16 de set. 2014. Disponible en [http://repositorio.utmachala.edu.ec/jspui/bitstream/11131/3534/1/Reversion%20sexual%20de%20la%20tilapia%20roja%20\(Oreochromis%20niloticus\)%20utilizando%20dos%20tipos%20de%20androgenos%20comerciale%20y%20un%20testigo%20\(~1.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/jspui/bitstream/11131/3534/1/Reversion%20sexual%20de%20la%20tilapia%20roja%20(Oreochromis%20niloticus)%20utilizando%20dos%20tipos%20de%20androgenos%20comerciale%20y%20un%20testigo%20(~1.pdf).
- Arboleda, D. 2005. Reversión sexual de las Tilapias Rojas (*Oreochromis* sp.), una guía básica para el acuicultor. Revista electrónica de Veterinaria REDVET 6(12):1-5. ES. Consultado 2 de may. 2012. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121205.html>.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 264:140-147.
- Avnimelech, Y; Kochba, M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ¹⁵N tracing. *Aquaculture*. 287: 163-168.
- Avnimelech, Y. 2011. Biofloc Technology (BFT) a brief summary. Dept of Civil y Environmental Eng. Technion. Israel Inst of Technology. 9th International Symposium on Tilapia in Aquaculture Shanghai Ocean University, Shanghai, CN. 3p.
- Avnimelech, Y. 2011. Tilapia Production Using Biofloc Technology (BFT). Dept of Civil y Environmental Eng. Technion. Israel Inst of Technology. 9th International Symposium on Tilapia in Aquaculture Shanghai Ocean University, Shanghai. CN. 4p

- Botero M.; Pineda, J.; Gallego, N. 2011. Inmersión de ovas de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en diferentes estadios de fertilización en una solución de 17 α -metiltestosterona y la proporción fenotípica del sexo. *Revista Colombiana Ciencias Pecuarias* (en línea). 24(1):38-47. Consultado 07 diciembre 2012. Disponible en: <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/652>.
- Borrovich, E. 2010. Efecto de la temperatura y aireación constante sobre el crecimiento y la sobrevivencia de alevines de *Oreochromis niloticus* (tilapia gris) y *Oreochromis spp.* (tilapia roja) durante la inversión sexual. Tesis ing. Pesquero. PE. Universidad Nacional Agraria La molina. 88 p.
- Castillo, L. 2001. Tilapia Roja una evolución de 20 años, de la incertidumbre al éxito doce años después (en línea). CO. Consultado 07 diciembre 2012. Disponible en: ag.arizona.edu/azaqua/ista/Colombia/TILAPIA_ROJA.doc.
- Cruz- Casallas, N; Marciales – Caro, L; Díaz- Olarte, J; Murillo-Pacheco, R; Medina-Robles, V; Cruz- Casallas, P. 2010. Desempeño productivo del yaque (*Leiarius marmoratus* Gill, 1870) bajo diferentes densidades de siembra en estanques en tierra. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2010. 23: 325-335.
- Daza, P; Landines, M; Sanabria, A. 2005. Reproducción de los peces en el trópico (en línea). Bogotá. CO. Universidad Nacional de Colombia. Consultado 8 de set. 2014. Disponible en <http://es.scribd.com/doc/239676887/Reproduccion-peces-tropico-pdf>.
- De Schryver P., R. Crab, T. Defoirdt, N. Boon, W. Verstraet. 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277:125–137.
- Departamento de estadística e informática. 2008. Universidad Nacional Agraria La Molina - UNALM. Métodos estadísticos para la investigación I. PE. 144p.
- Dirección de acuicultura. 2014. Red Nacional de Información Acuícola. Ministerio de la Producción - PRODUCE (en línea). PE. Consultado 15 de junio 2015. Disponible en http://rnia.produce.gob.pe/images/stories/archivos/pdf/notas_de_prensa/2014/np_cultivo_tilapia_en_el_peru.pdf.
- El-Sherif; M.S. and El Feky, Amal M. 2008. Effect of ammonia on Nile tilapia (*O.niloticus*) performance and some hematological and histological measures. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Anim. Prod. Y Fish Res. Dept., Fac. Agric., Suez Canal Univ., Ismailia. EG. 513-530.

- Ekasari, J; Crab, R; Verstraete, W. 2010. Primary Nutritional Content of Bio-flocs Cultured with Different Organic Carbon Sources and Salinity. *HAYATI Journal of Biosciences* 17(3):125-130.
- Espejo, C. 2012. Manejo industrial de las tilapias: Un inicio en el biofloc. Revista electrónica en Producción acuícola. 6(6). FAO. 2009. *Oreochromis niloticus*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Rakocy, J. E. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New (en línea). Consultado 14 de set. 2014. Disponible en ftp://ftp.fao.org/fi/Cdrom/aquaculture/I1129m/file/es/es_niletilapia.htm.
- FAO 2012. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. En línea. Consultado el 5 oct. 2012. Disponible <http://www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s00.htm>.
- Hahn, C; Gajales, A; Restrepo, M. 2012. Monografía de protocolos para obtener poblaciones monosexo de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*; TREW. 1993). Boletín científico Centro de Museos Museo de Historia Natural. CO. 16(1): 156-172.
- Jiménez M; Arredondo, J. 2000. Manual técnico para la reversión sexual de tilapia (en línea). Iztapalapa, D.F. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. 37 P. Consultado 16 de set. 2014. Disponible en <http://www.izt.uam.mx/pexpa/pdf/tilapia.pdf>.
- Kubitza, F. 2011. Criacao de tilapias em sistema com bioflocos. Panorama da aquicultura. BR. 21(125):14-23.
- Kaushik, S. 2000. Factores que afectan la excreción nitrogenada en teleósteos y crustáceos. Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. MX. 237-250.
- Kuhn, D; Lawrence, A; Boardman, G. 2011. ¿Qué beneficios trae el biofloc al camarón?. Global Aquaculture Advocate. 76-77.
- Ladino-Orjuela, G; Rodríguez-Pulido, J. A.; 2009. Efecto de *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodopseudomona palustris* (microorganismos eficientes em) y melaza en la ganancia de peso de tilapias (*Oreochromis sp*) en condiciones de laboratorio (en línea). Revista ORINOQUIA. Universidad de Los Llanos. CO. 13(1):31-36. Consultado 06 diciembre 2012. Disponible en <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/v13n1a04.pdf>.

- Landívar, J.1989. Determinación de la frecuencia óptima de alimentación para la reversión química del sexo de tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) (en línea). Tesis

de grado. Consultado el 3 de nov. 2014. Disponible en <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/4626>.

- Logato, P.V.R; Murgas, L.D.S; de Souza, F.O. 2004. Estudio del efecto de la relación macho hembra en la puesta natural y dosis de 17- α - Metil testosterona en la reversión sexual de tilapia-del-Nilo (*Oreochromis niloticus*) linaje tailandés (en línea). Anales de Veterinaria de Murcia. ES. 20: 95-103. Consultado 16 de set. 2014. Disponible en <http://revistas.um.es/analesvet/article/viewFile/17661/17041>.
- Lujan M., 2011. El uso de los bioflocs en acuicultura (en línea). Revista electrónica Aquahoy. Consultado el 2 may. 2012. Disponible en http://www.aquahoy.com/index.php?option=com_content&view=article&id=12607%3Ael-uso-de-los-bioflocs-en-acuicultura&catid=56&Itemid=100065&lang=es.
- Martínez, X. 2008. Evaluación del cultivo de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) y tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en diferentes sistemas intensivos de cultivo en Colombia (diapositiva) (en línea). Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia - CENIACUA. CO. 48 diapositivas. Consultado el 3 de nov. 2014. Disponible en http://www.ceniagua.org/archivos/may_15_08/Ximena_Martinez_Pardo.pdf.
- Meyer, D; Martinez, F; Triminio de Meyer, S. 2003. ACUACULTURA Manual de Prácticas (en línea). Zamorano. HN. Escuela Agrícola Panamericana. Consultado 3 de set. 2014. Disponible en <http://www.acuacultura.org/development/manuales/acua/acuacultura.html>. Nakaghi, L; Paes, M; Makino, L; Dias-Koberstein, T; Malheiros, E. 2009. Histological gender diagnosis and performance of *Oreochromis niloticus* testing diameters of crumble diet according to oral apparatus. Centro de Aquicultura – UNESP. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 61(3): 721-727.
- Ochieng, E; M. Musa, S; Mulanda, C; O. Abwao, J; Mbonge, J. 2014. An Appraisal of the Feasibility of Tilapia Production in Ponds Using Biofloc Technology: A review. International Journal of Aquatic Science. 5(1):21-39.
- Pallares, P; Borbor, W. 2012. Efectos del ácido omega 3 y la combinación omega 3 – omega 6 en la alimentación de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en la finca ‘‘El porvenir’’, pre parroquia San Gabriel del baba, Km 9 vía a Julio Moreno, en la zona de Santo

Domingo (en línea). Tesis Ing. Agropecuario. Santo Domingo. Ecuador. Escuela Politécnica del Ejército. 84 p. Consultado 18 de set. 2014. Disponible en <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5598/1/T-%20ESPE-IASA%20II-002459.pdf>.

- Pérez, R. 2002. Evaluación de tres hormonas sintéticas para la reversión de sexo de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (en línea). Tesis Ing. Agrónomo. Honduras. Zamorano. 25 p. Consultado 16 de set. 2014. Disponible en <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/2396/1/T1584.pdf>.
- Prieto, C; Olivera, M 2002. Incubación artificial de huevos embrionados de Tilapia Roja *Oreochromis sp* (en línea). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. CO. 15(1):115-120
- Poleo G.; Aranbarrio J. V.; Mendoza L.; Romero O.; 2011. Cultivo de cachama blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. Revista Pesquisa Agropecuaria Brasileira. BR. 46(4): 429-437.
- Popma T.; Green B.; 1990. Reversión sexual de tilapias en lagunas de tierra. International Center for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station Auburn University US. Research and Development Series N° 35. 30 p.
- PRODUCE (Ministerio de la Producción, PE). 2004. Cultivo de tilapia (en línea). 20 p. Consultado 18 de ene. 2014. Disponible en www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/.../manual_tilapia.pdf.
- Ramos, F; Triminio, S; Meyer, D; Barrientos, A. 2006. Determinación de costos del cultivo de tilapia a pequeña y mediana escala. Importancia de mantener un sistema de registros técnicos y contables (en línea). Proyecto USAID – RED. RED - TILAPIA. 26p. Consultado el 22 de set. 2014. Disponible en http://pdacrsp.oregonstate.edu/pubs/featured_titles/Determinacion_Meyer007.pdf.
- Rodríguez, E. 2012. Comparación de parámetros reproductivos en hembras de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) de alto y bajo valor genético (en línea). Tesis Ing.Zootecnista. Bogotá. Colombia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. 49 p. Consultado 22 de set. 2014. Disponible en <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/222/1/203147.pdf>

- SOFIA. 2012. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación.
- Taw, N. 2012. Recent Development In Biofloc Technology, Biosecure Systems Improve Economics, Sustainability. *Revista Global Aquaculture Advocate*. 15(5):28-29.
- Torres, P; Nucamendi, G; Pintos, P; Montoya, J. 2010. Masculinización de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) por inmersión en Fluoximesterona y Testosterona enantato. *Revista científica Zootecnia Tropical*. VE. 28(3): 341-351.
- Ulloa, D. 2012. Cultivo de tilapia, una mirada al rango de tecnologías, FotoBioReactor un concepto "nuevo" de producción. (basado en Biofloc) (diapositiva)(en línea). NO. 63 diapositivas. Consultado 12 de Noviembre de 2012. Disponible en http://www.aqua-surconference.cl/neo_2012/pdf/presentaciones/05JUEVES_TARDE_DIVERSIFICACION_BLOQUE_1/02%20DAVID%20ULLOA.pdf.
- Wassermann G. J.; Bertolla L. O. 2002. Validation of the aceto-carminic technique for evaluating phenotypic sex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) FINGERLINGS. *Revista Ciencia Rural, Santa Maria* 32(1): 133-139.
- Zimmermann, S. 2010. Bioreactor Technology for tilapia Advances In Latin America. *Global aquaculture advocate*. 13(3).

• VIII ANEXOS

Anexo 1

Longitud y peso según sexo de T-1

N°	Tanque 1			Tanque 4			Tanque 6			Tanque 7		
	Sexo	Peso (g.)	Long. (cm)	Sexo	Peso (g.)	Long. (cm)	Sexo	Peso (g.)	Long. (cm)	Sexo	Peso (g.)	Long. (cm)
1	Macho	8.5	8	Macho	2.7	5.7	Macho	8.9	8.5	Macho	16	10
2	Macho	9.4	8.2	Macho	4.3	6.5	Macho	8.8	8.5	Macho	9.3	8.5
3	Macho	10.8	8.9	Macho	3.2	6.2	Macho	8.2	8.1	Macho	7.3	7.5
4	Macho	8.4	8.2	Macho	4.1	6.7	Macho	8	7.7	Macho	7.9	8
5	Macho	5.9	7.2	Macho	5.9	7.4	Macho	5.3	7.2	Macho	7	7.7
6	Macho	3.2	5.7	Macho	2.6	5.6	Macho	3.7	6	Macho	6.9	7.5
7	Macho	4.2	6.6	Macho	3.4	6.1	Macho	1.8	5	Macho	6.5	7.1
8	Macho	4.8	6.5	Macho	2.1	5.3	Intersexo	2.4	5.3	Macho	5.7	7.4
9	Macho	10.5	8.8	Macho	2.3	5.4	Macho	2.8	5.8	Macho	7.6	7.2
10	Macho	7.7	7.8	Macho	5.9	6.8	Macho	2.4	5.5	Macho	6.5	7.5
11	Macho	12.9	9.2	Macho	4.4	6.6	Macho	3	6	Macho	6.6	7.4
12	Macho	7.4	7.9	Macho	4.1	6.7	Hembra	1.9	5	Macho	6.5	7.5
13	Macho	9.1	8.5	Macho	2.8	5.8	Macho	4.8	6.7	Macho	5.5	7.1
14	Macho	10.2	8.6	Macho	2.9	5.8	Macho	4	6.4	Macho	5.6	6.8
15	Macho	5.4	6.7	Macho	1.9	5.2	Macho	3.5	5.9	Macho	5.7	7
16	Macho	10.6	8.6	Macho	3.5	5.7	Macho	6.5	7.2	Macho	4.9	6.8
17	Macho	11.1	9	Macho	5.5	7.2	Macho	3.5	5.9	Macho	4.7	6.4
18	Macho	11.5	8.8	Macho	2.2	5.3	Hembra	1.7	4.9	Macho	3.4	6
19	Macho	2.7	5.4	Macho	2.7	5.6	Macho	5.4	7.1	Macho	3.7	6.1
20	Macho	7	7.5	Macho	2.5	5.6	Macho	4.5	6.4	Macho	3.8	6
21	Macho	4.1	6.3	Macho	2.6	5.7	Macho	4.7	6.7	Macho	3.3	5.3
22	Macho	2.5	5.3	Macho	7.7	8	Macho	2.7	5.6			
23	Hembra	4	6.2	Macho	1.9	5.1	Macho	2.2	5.2			
24	Macho	3.3	5.6	Macho	4.8	6.6	Macho	3	5.5			
25	Macho	3.2	5.6	Macho	3.7	6.4	Macho	2.4	5.4			
26				Macho	2.3	5.3	Macho	2.6	5.5			
27				Macho	1.4	4.8	Macho	2.6	5.8			

<<Continuación>>

28	Macho	1.9	4.9	Macho	2.2	5.5
29	Macho	1.9	5.1	Macho	1.7	5
30	Macho	3.2	5.8			
31	Macho	3.7	6.4			
32	Macho	2.2	5.3			
33	Macho	3.3	6.4			
34	Macho	2.5	5.6			
35	Hembra	1.6	5			
36	Macho	1.8	5.1			
37	Macho	3.6	6.5			
38	Macho	3.8	6.3			
39	Macho	4.1	6.6			
40	Macho	2.3	5.5			
41	Macho	6.3	6.7			
42	Macho	6.4	7.6			
43	Macho	2.8	5.8			
44	Macho	1.5	4.9			
45	Macho	3.6	6.4			
46	Macho	4.7	6.8			
47	Macho	3.5	6.3			
48	Macho	2.7	5.8			
49	Macho	2.2	5.4			
50	Macho	6.6	7.1			
51	Macho	6.9	7.5			
52	Macho	2.6	5.8			
53	Macho	4.2	6.5			

Anexo 2

Longitud y peso según sexo de T-2.

N°	Tanque 2			Tanque 3			Tanque 5			Tanque 8		
	Sexo	Peso (g.)	Long. (cm)	Sexo	Peso (g.)	Long. (cm)	Sexo	Peso (g.)	Long. (cm)	Sexo	Peso (g.)	Long. (cm)
1	Macho	10.8	9.1	Macho	18.4	10.5	Macho	7.1	8	Macho	7.2	7.8
2	Macho	8.4	8.4	Macho	11.2	8.8	Macho	7.3	8	Macho	11.5	8.9
3	Macho	3.8	3.8	Macho	8.4	8	Macho	6.7	7.5	Macho	10.5	9
4	Intersexo	8.1	8.1	Macho	7.3	7.6	Macho	4.6	6.8	Macho	9.5	8.6
5	Macho	9.8	9.8	Macho	7.7	7.7	Macho	3.1	5.9	Macho	8.1	7.8
6	Macho	6.9	6.9	Macho	7.1	7.5	Macho	4.8	6.9	Macho	8.9	8.4
7	Macho	4.2	4.2	Macho	7	7.7	Macho	4.9	7	Macho	10.1	8.7
8	Macho	2.5	2.5	Macho	5.6	7	Macho	2.4	5.4	Macho	10.8	8.7
9	Macho	5.9	5.9	Macho	7.2	7.6	Hembra	5.5	6.8	Macho	5.5	7.2
10	Macho	8.2	8.2	Macho	3.7	6.5	Macho	4.2	6.7	Macho	4.8	7
11	Macho	5.1	5.1	Macho	6.2	7.1	Macho	2.7	5.9	Hembra	5.7	7.1
12	Macho	6.8	6.8	Macho	4.8	6.8	Macho	1.8	5	Macho	7.3	6.2
13	Macho	2.7	2.7	Macho	4.8	6.8	Macho	2	5.3	Macho	5	6.8
14	Macho	3.1	3.1	Macho	3.9	6.5	Macho	1.4	4.5	Macho	4.3	7.6
15	Macho	10.3	10.3	Macho	1.9	4.9	Macho	3.7	6.5	Hembra	4.4	6.8
16	Macho	2.9	2.9	Macho	3.3	6	Macho	2.1	5.2	Macho	4.1	6.8
17	Macho	4.4	4.4	Macho	3.3	6.1	Macho	2.3	5.4	Macho	3.9	6.5
18	Macho	9.1	9.1	Macho	3	5.7	Macho	3.5	6	Macho	3.5	6.2
19	Macho	5.5	5.5	Macho	6.5	4.2	Macho	3.2	6	Macho	6	3.8
20	Macho	7.5	7.5	Macho	2.5	5.4	Macho	2.8	5.9	Macho	4.1	6.2
21	Macho	3.9	3.9	Macho	2.8	5.5	Macho	1.7	4.9	Hembra	1.9	5.1
22	Macho	2.3	2.3	Macho	2.1	5	Macho	4.3	6.8	Macho	3.4	6.2
23	Intersexo	5.8	5.8	Macho	3.7	6.1	Macho	2.2	5.2	Macho	6.6	5
24	Macho	2.8	2.8	Macho	3.3	6	Macho	3.8	6.6	Macho	2.7	5.8
25	Macho	3.5	3.5	Macho	1.6	4.5	Macho	4.4	6.9	Macho	1.9	4.9
26	Macho	2.1	2.1	Macho	7	7.6	Macho	3.7	6.5	Macho	2.3	5.6
27	Macho	5.5	5.5				Macho	5.3	7.3	Macho	3.1	5.8
28	Macho	2.6	2.6				Macho	2.2	5.2	Macho	4.4	6.8
29	Macho	7.1	7.1				Macho	2.2	5.3	Macho	4.1	6.2
30	Macho	2.4	2.4				Macho	2.2	5.3	Macho	4	6.4
31	Macho	2.7	2.7				Macho	4.9	7.1	Macho	2.3	5.5
32	Macho	2.2	2.2				Macho	1.8	5	Macho	2.1	5.2
33	Macho	1.5	1.5				Macho	1.6	4.9	Macho	2.6	5.7
34							Macho	7.7	8.2	Macho	3.8	6.5
35							Macho	3.7	6.2	Macho	2.4	5.5

<<Continuación>>

36	Macho	3.2	6	Macho	2.4	5.3
37	Macho	2.2	5.5	Macho	1.6	4.8
38	Macho	2.2	5.4	Macho	1.6	4.8
39	Macho	1.5	4.2			
40	Macho	7.3	8			
41	Macho	2.9	6			
42	Macho	2.9	6			
43	Macho	3	6			
44	Macho	2.2	5.5			
45	Macho	3	6			
46	Macho	4.1	6.6			
47	Hembra	2.7	5.8			
48	Macho	2.2	5.4			
49	Macho	2.1	5.4			
50	Macho	1.8	5.3			
51	Macho	1.9	5.1			
52	Macho	4.5	4.6			
53	Macho	3.8	1.8			

Anexo 3

Pruebas estadísticas para valores de crecimiento.

- **Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales – Peso.**

	<i>Agua clara</i> (T-1)	<i>Biofloc</i> (T-2)
Media	0.07793186	0.05682496
Varianza	0.00630999	0.00233633
Observaciones	2	2
Varianza agrupada	0.00432316	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Gados de libertad	2	
Estadístico t	0.32101373	
P(T<=t) una cola	0.38932008	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.77864016	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

- **Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales – Longitud.**

	<i>Agua clara</i> (T-1)	<i>Biofloc</i> (T-2)
Media	15.5203125	14.9646875
Varianza	35.2537549	24.556908
Observaciones	2	2
Varianza agrupada	29.9053314	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Gados de libertad	2	
Estadístico t	0.10160322	
P(T<=t) una cola	0.46417019	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.92834038	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 4

Pruebas estadísticas para valores de sobrevivencia

- **Prueba F para varianza de dos muestras.**

	<i>T-1</i>	<i>T-2</i>
Media	304.625	322
Varianza	18192.7813	12168
Observaciones	2	2
Gados de libertad	1	1
F	1.49513324	
P(F<=f) una cola	0.43641263	
Valor crítico para F (una cola)	161.447639	

- **Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales**

	<i>T-1</i>	<i>T-2</i>
Media	304.625	322
Varianza	18192.7813	12168
Observaciones	2	2
Varianza agrupada	15180.3906	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Gados de libertad	2	
	-	
Estadístico t	0.14102085	
P(T<=t) una cola	0.45038765	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.9007753	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 5

Cálculo de valores para prueba de comparación de dos proporciones.

Agua clara		Biofloc	
p1	0.9609	p2	0.9533
q1	0.03906	q2	0.04667
n1	128	n2	150

Z calculado	0.3107
Z crítico	± 1.96
α	0.05

Anexo 6: Valores promedio de longitud (mm) y peso (g) de muestras utilizadas y por repetición para la identificación del sexo y porcentaje de machos por tratamiento.

Tratamiento	Tanques	N° muestra	peso prom.	peso prom. tratamiento	long. prom.	long. prom. tratamiento	N° Hembras	N° Total Hembras tratamiento	N° Machos	N° Total de Machos tratamiento	% Machos	% Machos promedio tratamiento
Agua clara	1	25	7,14	5,24	7,40	6,70	1	4	24	123	96	96
	4	53	3,46		6,04		1		52		98	
	6	29	3,97		6,18		2		26		90	
	7	21	6,40		7,18		0		21		100	
Biofloc	2	33	5,16	4,77	5,11	6,05	0	5	31	143	94	96
	3	26	5,55		6,66		0		26		100	
	5	53	3,42		5,94		2		51		96	
	8	38	4,96		6,51		3		35		92	