

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar



CASO DE ESTUDIO:

**“USO DE PROBIÓTICO PARA LA PRODUCCIÓN DE
BIOFLOC EN RACEWAY DE POSTLARVAS DE
CAMARÓN – CASO ECUADOR”**

EXAMEN COMPLEXIVO

FASE ORAL

Previa a la obtención del Título de:

ACUICULTOR

Presentado por:

Luis Alfredo Malavé Jiménez

Guayaquil – Ecuador

2015

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a mi Dios que es el dador de vida, a mi amada esposa que es mi ayuda idónea y mi fiel compañera, a mi querida madre fuente de mi inspiración. A mis queridos hermanos que siempre los llevo en mi corazón, a mis profesores de la carrera de Acuicultura, y a mis compañeros de estudio, muchas gracias.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de graduación principalmente a mi madre, quien con su dedicación y esfuerzo dio los mejores años de su vida a cuidarme y brindarme un buen ejemplo.

A mi esposa que me motivó con mucho amor para que pudiera culminar con éxito mi carrera de Acuicultor.

TRIBUNAL DE GRADO



Marco Álvarez Gálvez Ph.D.
EVALUADOR



Jerry Landívar Zambrano M.Sc.
EVALUADOR



Roberto Retamales Biol., Ph.D.
PROFESOR GUÍA

USO DE PROBIÓTICO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOFLOC EN RACEWAY DE POSTLARVAS DE CAMARÓN – CASO ECUADOR

Ac. Luis Alfredo Malavé Jiménez (1)
Biol., Ph.D. Roberto Retamales G. (2)
Facultad de Ingeniería Marítima, Biológicas, Oceanográficas y Recursos Naturales
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)
Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral
Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador
luismalave@kcbooks.com.ec (1)
roretamales@gmail.com (2)

Resumen

*La industria del cultivo de camarón en el Ecuador, se ha caracterizado por ser líder a nivel mundial en producción, alcanzando en los últimos años niveles muy altos, pero estos logros se han podido alcanzar gracias a muchas innovaciones tecnológicas que se han podido implementar en todas las etapas de cultivo. Una de estas innovaciones tecnológicas es la utilización de Raceways con uso de Biofloc, previo a la siembra en piscinas de engorde, con el objetivo de mejorar nutricionalmente a las post-larvas de *Litopennaeus vannamei* que vienen de los laboratorios y puedan ser más resistentes al nuevo ambiente, y de esta manera poder acortar los ciclos de cultivo, aumentar la tasa de sobrevivencia y disminuir el índice de conversión alimenticia, en resumen poder ser más eficientes en el cultivo comercial de camarón. Este trabajo está orientado a poder producir Biofloc en tanques de Raceways en cantidad y calidad suficiente previo a la siembra con post-larvas de *Litopennaeus vannamei*, a través del uso de *Bacillus* y Enzimas comerciales.*

Palabras Claves: Biofloc, Raceway, Post-larva, *Bacillus*, Enzimas, Heterótrofas, Flóculo.

Abstract

*The farming of shrimp industry in Ecuador has been characterized for its leadership in the worldwide production. It has reached the highest levels but these accomplishments had occurred thanks to the technological innovations that have been implemented in all the farming stages. One of these technological innovations is the use of Raceways which uses Biofloc before cultivating in the fattening pools in order to improve nutritionally the post-larva of *Litopennaeus vannamei* coming from labs so that they can be stronger to the new environment. This way, the farming cycles can be shortened, the survival rate increases and the food conversion could decrease; in summary, be able to be more efficient in the commercial farming of shrimp.*

*This work is oriented to produce Biofloc in Raceways tank in necessary quantity and quality previous to the cultivation of post-larvae of *Litopennaeus vannamei* using a Commercial *Bacillus* and Enzymes.*

Keywords: Biofloc, Raceway, Post-larvae *Bacillus*, Enzymes, Heterotrophs, Floccule.

1. Introducción

1.1 Concepto:

El Biofloc es definido como un medio rico en materia orgánica, que está formado por una biomasa de partículas y colonizada por bacterias. Visto desde un punto de vista nutricional, ayuda al camarón a ganar peso, debido a la abundancia de proteína nativa proveniente de protozoarios, bacterias filamentosas, nemátodos, ciliados, flagelados y rotíferos. [8]

La tecnología Biofloc es una técnica sustentable que utiliza cero recambio de agua en un sistema de cultivo de camarón. [3]

El biofloc puede asimilar los contaminantes de la columna de agua, y proveen a las granjas de camarón con

proteína durante el período de crecimiento. [4]

1.2 Propiedades:

El biofloc no solo promueve y desarrolla el control efectivo de la acumulación de amonio y nitrito en la columna de agua, sino que también está disponible como fuente de alimento suplementario para el camarón. [1]

Las bacterias en el biofloc pueden tener alguna actividad antibiótica y una composición genética similar a las que se observan en comunidades de vida silvestre. [5]

La producción natural de algunas sustancias realizada por las bacterias en el biofloc, ha sido reportada para impedir el crecimiento de especies

patógenas que co-habitan como el *Vibrio Harveyi* [9]

La ecología bacteriana en estos sistemas logra un equilibrio en los nutrientes debido a que el nitrógeno es reciclado y transformado por bacterias nitrificantes. [6]

Una potencial alternativa referida a la tecnología biofloc (BFT) es que las bacterias heterotróficas, pueden convertir el nitrógeno en biomasa bacteriana. [10]

(BFT) está basada en la asimilación de las especies de nitrógeno inorgánico (TAN), por medio de la comunidad microbiana presente en el agua de Acuicultura. [2]

1.3 Valor nutricional:

Biofloc puede ser consumido por el camarón y puede reemplazar una fracción significativa de la demanda de proteína. [7]

La formación y desarrollo de bioflocs pueden jugar importantes roles como fuente suplementaria de alimento in situ, mejorando la utilización del alimento, digestión de proteína y retención para el camarón, contribuyendo para un mejor crecimiento. [15]

El consumo del biofloc puede incrementar la eficiente utilización de alimento recuperando una fracción de los nutrientes de las excretas. [11]

Los bioflocs y sus organismos adjuntos pueden ejercer un efecto positivo en la

actividad enzimática digestiva del camarón, incluyendo la proteasa. [13]

1.4 Procesos Bacterianos:

La proliferación de bacterias se consigue adicionando materia orgánica, siendo su principal fuente el alimento formulado. Las bacterias forman partículas de pocos milímetros de tamaño donde podemos encontrar residuos orgánicos y microorganismos como protozoos y zooplancton. Un control apropiado del ecosistema microbiano permite el control efectivo de la calidad de agua, principalmente a través de la conversión de las especies de nitrógeno inorgánico potencialmente tóxicas a proteína microbiana. A su vez los camarones pueden utilizar la proteína microbiana para alimentarse.

[4]

Para incentivar el crecimiento de bacterias heterótrofas, debemos elevar la relación C:N, adicionando fuentes suplementarias de hidratos de carbono o reduciendo el nivel de proteína de la alimentación. Las bacterias heterótrofas crean una demanda de nitrógeno (como amoníaco).

Por lo tanto el amoníaco se puede controlar mediante la adición de carbono orgánico para estimular el crecimiento de bacterias heterotróficas.

[12]

Bacterias heterotróficas pueden minimizar la acumulación de amonio por la asimilación de la biomasa bacteriana; se puede estimular el crecimiento bacteriano mediante la manipulación de la tasa de C:N en la columna de agua. [14]

En sistemas de biofloc (BFT), la adición de sustratos carbonatados mejora la producción microbiana, y controla las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato. [3]

Para que las bacterias heterótrofas controlen el amonio como lo menciona Avnimelech [3], se necesita aumentar la relación C:N de 12 a 15:1. Este aumento se puede conseguir adicionando productos con alta relación C:N, como pellets de cereal integral, melaza, caña de azúcar, bagazo, etc.

Las bacterias heterotróficas absorben rápidamente el amoníaco después de la suplementación de hidratos de carbono. [12]

1.5 Aireación:

En los sistemas biofloc (BFT), es indispensable que los sólidos estén

suspendidos en la columna de agua en todo momento, de lo contrario el sistema no va a funcionar. Cuando la aireación es insuficiente o deja de funcionar, los bioflocs se adhieren formando partículas más grandes, que consumen rápidamente el oxígeno disuelto, dando lugar a zonas anaeróbicas, en la cuales hay liberación de sulfuro de hidrógeno, metano y amoníaco, que son altamente tóxicos.

La aireación excesiva puede ocasionar que los animales cultivados se les dificulten la localización del alimento.

La aireación u oxigenación debe ser la adecuada y suficiente, ya que los sistemas biofloc (BFT) tienen una alta demanda de oxígeno, y de esa manera pueden mantener todos los parámetros en niveles óptimos.

2. Materiales y métodos

2.1 Datos de la zona:

El estudio se realizó en las instalaciones de la camaronera Expormeksa S.A. ubicada en la parroquia Taura, Provincia del Guayas. Esta zona se caracteriza por tener los afluentes de agua con baja salinidad, alta concentración de metabolitos tóxicos y gran cantidad de sólidos en suspensión; en resumen mala calidad de agua, por lo que esta camaronera trabaja con sistema de recirculación.



Fig. 1. Camaronera Expormeksa S.A. Taura, provincia de Guayas.

2.2 Materiales utilizados:

Bacterias y enzimas:

Comerciales.

Composición:

Microbios y Enzimas: 5%

Microbios: 5.0×10^9 cfu / gramo

Bacillus megaterium 400

Bacillus amyloliquefaciens 390

Bacillus subtilis 301

Bacillus licheniformis 100

Bacillus pumilus 119

Enzimas:

Protease: 300,000 unidades/libra

Amylase: 220,000 unidades/libra

Lipase: 9,000 unidades/libra

Cellulase: 9,000 unidades/libra

Xylanase: 4,500 unidades/libra

Vehículo: (mezcla de sales de dendrita): 95%



Fig.2. Bacillus y enzimas heterótrofas.

Melaza:

Fuente de carbohidratos (40% de carbono).



Fig.3. Melaza presentación de 30 Kg.

Polvillo de arroz:

Fuente de sustrato.



Fig.4. Polvillo en saco de 30 Kg.

Peróxido de hidrógeno al 50%:



Fig. 5. Peróxido de hidrógeno al 50%.

Cal P-24.

Urea:

Urea:

Fuente de nitrógeno (46% de nitrógeno).



Fig. 6. Urea presentación de 50 Kg.

2.3 Equipos:

-Tanques de cemento (redondos), revestidos con liners con capacidad de 45 toneladas.



Fig. 8. Tanques de 45 toneladas.

Alcohol:



Fig. 7. Alcohol metílico.

-Sistema de aireación proporcionado por manguera microporosa, se necesita un metro lineal de manguera por cada tonelada de agua para poder proveer suficiente aireación y movimiento al tanque.

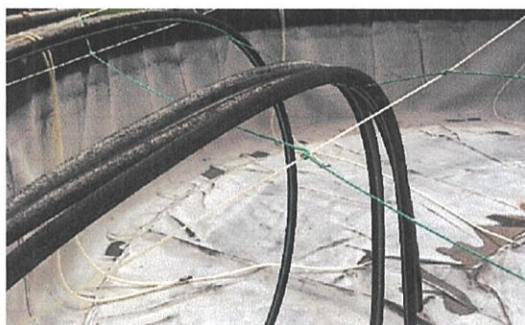


Fig. 9. Mangueras microporosas.

-Líneas de tubería de PVC para aire y agua:



Fig. 11. Tuberías de aire y de agua.

-Blower de 5 HP, se necesita 2.5 HP para cada tanque de 45 toneladas.



Fig. 10. Blowers de 5 HP.

2.4 Metodología utilizada:

2.4.1 Desinfección:

Líneas de aire:

Previo al llenado del tanque, se necesitó hacer una desinfección de las líneas de aire y agua con alcohol, el cual se tuvo que introducir en cada línea de la tubería y se lo mantuvo por 4 horas aproximadamente.

Tanque:

A continuación se lavó el tanque y todos los materiales que están en él, con abundante agua y se restregó con cepillo todas las paredes y el piso para eliminar la suciedad. Para desinfectar el tanque se procedió a un lavado completo con agua y a continuación se restregó pisos, paredes y materiales con una solución de peróxido de hidrógeno al 50% (2 litros de peróxido diluidos en 10 litros de agua). Dejándolos reposar durante 30 minutos.

A continuación se restregó paredes, pisos y materiales del tanque con vitamina C, (50 gramos por tanque).

2.4.2 Preparación de biofloc:**Día 1:**

Paso 1: Se llenó el tanque con malla de una micra, hasta completar el nivel de operación (45 toneladas).

Paso 2: Se completó el nivel operacional (45 toneladas) y se procedió a airear y a desinfectar el agua con la aplicación de la Cal P-24 muy bien diluida, (110 gramos de cal/tonelada) y se lo dejó actuar por 1 hora. Durante esa hora, se retiró la suciedad e impurezas que se acumularon en el tanque.

Paso 3: Cuando se cumplió la hora, se procedió a la aplicación del peróxido de hidrógeno al 50% y se colocó (650 ml / tonelada) y se lo dejó actuar por 24 horas con aireación. Se continuó retirando la suciedad del tanque, durante este lapso de tiempo.

Día 2:

Paso 1: Se procedió con la aplicación de la fuente de carbono (melaza 40% de carbono) y se colocó (110 ml / tonelada). Esta preparación estuvo bien diluida con agua del tanque y se la dejó actuar por 30 minutos.

Paso 2: Cumplidos los 30 minutos se procedió con la aplicación de la fuente de nitrógeno (urea 46% de nitrógeno), se colocó (15,6 gramos / tonelada) dejándola actuar por 1 hora.

Paso 3: Cuando se cumplió la hora, se procedió con la aplicación de los bacillus y enzimas comerciales y se colocó (2,5 gramos / tonelada). Previo a la aplicación en el tanque se la hidrató de 10 a 15 minutos. Una vez aplicado los bacillus y enzimas, se esperó una hora.

Paso 4: Cuando se cumplió la hora, se procedió con la aplicación del sustrato (polvillo de arroz) y se colocó (90 gramos / tonelada), antes de aplicar el polvillo, se lo filtró con malla para retirar partículas de arroz que suelen venir, dejándolo actuar por 24 horas.

Día 3:

Paso 1: Se procedió con la aplicación de la fuente de carbono (melaza) y se colocó (90 ml / tonelada) bien diluida con agua del tanque y se esperó por 30 minutos.

Paso 2: Cuando se cumplió los treinta minutos, se procedió con la aplicación de los bacillus y enzimas, se colocó (1.5 gramos / tonelada) y se esperó durante 24 horas.

El paso 1 y 2 del día # 3 se lo repitió exactamente igual durante los 4 días siguientes.

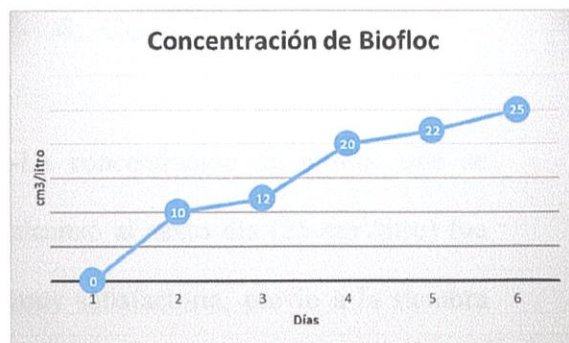


Fig. 12. Concentración de biofloc por día

3. Resultados:

La concentración de Biofloc en el presente trabajo, se lo midió en (cm³/litro). La medición se la realizó diariamente por seis días, previo a la siembra de post-larva, teniendo un incremento que se refleja en el siguiente gráfico.



Fig. 13. Distintas concentraciones de biofloc en ml.

El biofloc que se pudo producir estuvo conformado principalmente por sustrato, cianofitas, diatomeas, clorofitas, rotíferos, heliozoos, nematodos, bacterias y ciliados.

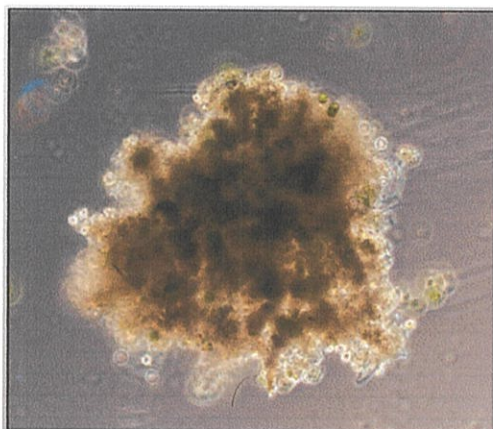


Fig. 14. Flóculo visto al microscopio.

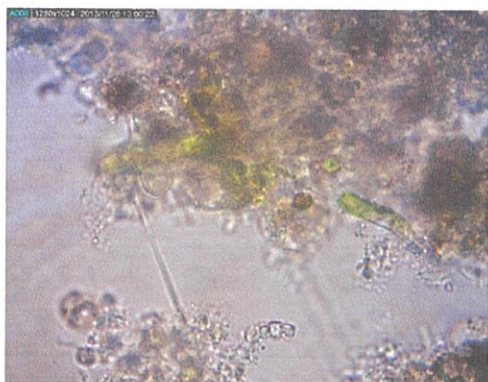


Fig. 15. Flóculo visto al microscopio.

4. Conclusiones:

-La concentración de biofloc que se alcanzó al sexto día ($25 \text{ cm}^3/\text{litro}$) fue muy satisfactoria, previo a la siembra de las post-larvas.

-La composición nutricional del biofloc, estuvo de acuerdo a las necesidades de las post-larvas, ya que en la revisión al microscopio en los flóculos, estuvieron presentes gran cantidad de cianofitas, diatomeas, clorofitas, rotíferos, heliozoos y nemátodos.

-Los bacillus y enzimas (Pond Pro) manufacturados por BioZ Technologies LLC, USA, nos permitieron producir una buena concentración y calidad de flóculos.

-Esta técnica empleada nos permitió la producción de una buena concentración de biofloc, determinada a través de la lectura diaria en mililitros en los conos de precipitación y su composición a través de microscopía.

5. Agradecimientos:

Mi agradecimiento en primer lugar es a mi Señor Jesucristo, quien me ha dado la vida y la sabiduría para culminar esta etapa académica y profesional, la cual término con mucho gozo, y gratitud por su fidelidad. También agradezco a mi amada esposa, mi compañera, que el Señor me la obsequió, ella es la principal motivación en todo lo que realizo y gran parte de este logro se lo debo a ella. Quiero agradecer a mi madre, quien fue la que con su esfuerzo y amor me proveyó de todos sus recursos para poder estudiar esta

profesión, en esta gran institución. Agradezco a mis compañeros de estudio que durante este corto tiempo, revivimos muchos momentos de nuestra época de jóvenes estudiantes y por último, pero no menos importante, a la Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales que junto a nuestros estimados catedráticos: Marco Álvarez, Jerry Landívar, Fabricio Marcillo, Roberto Retamales y Víctor Osorio, nos han ayudado para poder culminar con éxito una meta que teníamos pendiente.

6. Bibliografía:

[1] Arnold, S.J., Coman, F.E., Jackson, C.J., Groves, S.A., (2009). High-intensity, zero-water exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an evaluation of

artificial substrates and stocking density. *Aquaculture* 293, 42-48.

[2] Avnimelech, Y., (2006). Bio-filters: the need for an new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering* 34, 172-178.

[3] Avnimelech, Y., V.M. (2008). Sustainable land-based aquaculture: rational utilization of water, land and feed. *Mediterranean Aquaculture Journal* 1, 45-55.

[4] Avnimelech, Y., (2012) . Bio Floc Technology-A practical Guide Book, 2nd edition. *The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.*

[5] Bianchi, M.A.G., (1979). Polyphasic study of the microbial

ecology of bacteria-phytoplankton interactions. Presented at: Aquatic Microbial Ecology: Proceeding of the Conference/Sponsored by the *American Society of Microbiology, 7-10 Feb 1979, Clearwater Beach, FL (USA).*

[6] Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.H., Bauman, R.H., Pearson, D.C., (2003) Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219, 393-411.

[7] Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Bauman, R.H., Pearson, D.C. (2004). The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-

exchange system, *Aquaculture* 232, 525-537.

[8] Decamp, O., Conquest, L., Forster, I., Tacon A.G.J., (2002). The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production system: role of Eukaryotic microorganism. In: Le. C.S., O'Bryen, P. (Eds), *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally sound Aquaculture Production Systems*. *World Aquaculture Society, Baton Rouge FL, UA*, pp. 79-86.

[9] Defoirdt, T., Halet, D., Vervaeren, H., Boon, N., Van de Wiele, T., Sorgeloos, P., Bossier, P., Verstraete, W., (2007). The bacterial storage compound poly-hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from

pathogenic *Vibrio campbelli*. *Environ. Microbiol.* 9 (2) 445-452.

[10] De Schryver, P., Verstraete, W., (2009). Nitrogen removal from Aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors. *Bioresource Technology* 100, 1162-1167.

[11] Hargreaves, J.A., (2006). Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 34, 344-363.

[12] Hargreaves, J., (2013). *Biofloc Production Systems for Aquaculture*. United States: *Southern Regional Center*.

[13] Moss, S.M., Divakaram, S., Kim, B.G., (2001). Stimulating effects of pond water on digestive enzyme activity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research* 32, 125-131.

[14] Otoshi, C., (2011). Establishing Nitrifying bacteria in super-intensive biofloc shrimp production. *Global Aquaculture Advocate*, 24-25.

[15] Wu-Jie Xu, Lu-Quig Pan, Da-Hu-Zhao, Jie-Huang (2012). Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein level in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture* 350-353, 147-153.