

*“Certifico que las siguientes 6 páginas son una reimpresión exacta del artículo escrito por el Dr. E.G. JAYARAJ, Profesor del Departamento de Acuicultura del Colegio de Pesca de Kankanady, MANAGALORE, Karnataka, India. El Profesor Jayaraj escribió este artículo basado en su investigación de la habilidad de oxidación del amoníaco (nitrificación) de nuestro producto StartSmart, especialmente investigando la reducción en la mortalidad y el incremento en los rendimientos de las cosechas de especies acuícolas, debido a la reducción de amoníaco tóxico al utilizar nuestro producto StartSmart”*

---

*John M. Wong, Director, TLC Products [johnwong@tlc-products.com](mailto:johnwong@tlc-products.com)  
15752 Industrial Parkway Cleveland OH 44135 Tel.: 216-472-3030 Fax: 216-472-3030*

*Firma Autógrafa: Rose A. Pogonis*

SELLO NOARIO PÚBLICO  
ROSE A. PONGONIS  
Notario Público – Estado de Ohio  
Mi Comisión Expira el 27 de julio de 2016

## Resumen del Experimento de Mejora de Calidad del Agua e Incremento de la Producción Acuícola debido al uso del Producto StartSmart

**Título del Proyecto:** “Evaluación y validación de las Formulación Biológica Patentada para mejorar de calidad de agua e incrementar la producción de especies acuícolas en estanques acuicultura”.

Este estudio está dirigido por el Colegio de Pesca, Veterinaria Karnataka y la Universidad de Ciencias Animales y Pesquera (Bidar). Los investigadores y colaboradores son:

| Investigadores Principales   | Investigadores Colaboradores        |
|--|-------------------------------------|
| Dr. E.G. JAYARAJ   | Dr. H. Shivananda Murthy            |
| Profesor of Acuicultura  | Profesor of Acuicultura             |
| Departamento of Acuicultura  | Departamento of Acuicultura         |
| Colegio de Pesca, Universidad KVAFS  | Colegio de Pesca, Universidad KVAFS |
| Kankanady  | Mangalore-575002                    |
| Mangalore-575002   | Karnataka, India                    |
| Karnataka, India   |                                     |
| Teléfono: 91-824-2249256   |                                     |
| Fax: 91-824-2248366 (off)  |                                     |
| Celular: 91-94480-33957  |                                     |
| E-mail: <a href="mailto:jaya_ettigi@yahoo.com">jaya_ettigi@yahoo.com</a>       |                                     |
| <a href="mailto:Jayaraj@fisheriesroundup.com">Jayaraj@fisheriesroundup.com</a> |                                     |

El proyecto de investigación tuvo tres objetivos:

1. Evaluar el uso y eficacia de StartSmart y los cambios en la calidad del agua y del suelo producidos por este.
2. Evaluar los efectos de StartSmart en el ciclo de producción de alimentos para peces.
3. Evaluar y validar los efectos del StartSmart en el desarrollo y crecimiento de los peces.

El proyecto fue dividido en cuatro fases:

- Fase 1: Etapa de crianza de carpas de estanques para pececillos bajo un sistema intensivo.
  - Fase 2: Crianza de pececillos para alevines de carpas bajo un sistema intensivo
  - Fase 3: Cultivo controlado de carpas en estanques de lodo
  - Fase 4: Eficacia del StartSmart para transportar a los peces y sus “semillas”.
- Este escrito cubre hasta la fase tres.

## Introducción

Las condiciones experimentales fueron las siguientes:

- 4 estanques,  $5 \times 5 \times 0.8 \text{m} = 20 \text{m}^3$  cada uno ( $25 \text{m}^3$ ), dos estanques para la prueba del StartSmart y dos estanques sin ser sometidos a las pruebas el StartSmart.
- Encalar – 50gramos por estanque (250 kilogramos por hectárea)
- Excremento de vaca (dosis inicial) – 25 kilogramos por estanque (10,000 kilogramos por hectárea) + Dosis mensual de 4 kilogramos por estanque (1,600 kilogramos por hectárea).
- Dejar reposar por 10 días
- Población de peces alevines (Peso promedio de las carpas: 3.0 gramos)
- 18 peces alevines por estanque (7,200 peces por hectárea)
- Comida en polvo RB+GOC (5% BW)
- Tomar muestras cada 14 días (2 semanas)
- Repetir el proceso durante 7 meses (210 días)

El lote y dosis del StartSmart fueron establecidos de la siguiente forma.

**Durante los primeros 100 días (aproximadamente) del programa, los 4 estanques fueron operados sin añadir StartSmart.** Esto permitió:

- Examinar el control y realizar un examen (el StartSmart se deberá añadir después de pasados 100 días) para asegurar que se estuviera operando bajo los requisitos establecidos.
- Se espera que no ocurran accidentes durante 100 días. No mortality is expected through day 100, therefore
- Durante los primeros 100 días, los cuatro estanques fueron operados según lo indicado (misma aireación, almacenamiento de pesca, alimentación, fertilización, etc.) y el concepto permitió que se pudieran realizar las inspecciones adecuadas de los parámetros que validaran el examen de las condiciones de calidad.

El 24 de diciembre del 2012, los productores de dosificación del StartSmart comenzaron a operar de la siguiente manera:

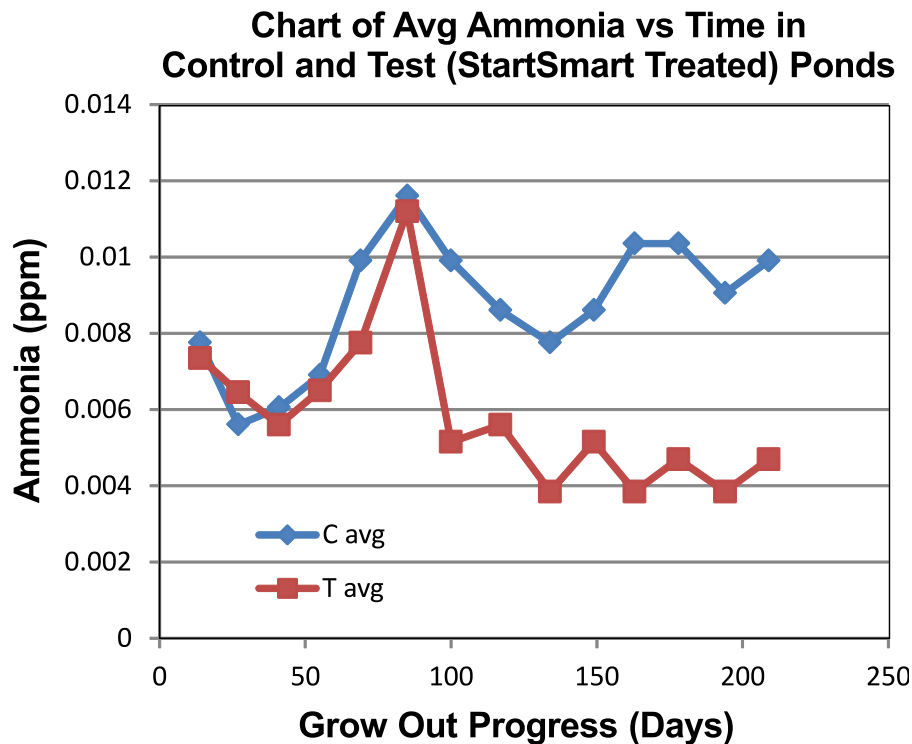
- **Para la primera puesta en marcha del biorreactor**, al tambor aireado, adicionar 8 litros de StartSmart y 300 gramos de Polvo Activador en 100 litros de agua (agua del grifo sin cloro) Llenar hasta llegar a los 100 litros.
- Airear utilizando burbujas finas durante **14 días** a temperatura ambiente (30 C).
- Aplicar 25 litros de solución incubada a cada estanque de prueba (2 estanques; 50 litros, o una mitad de la solución fue utilizada), dejando 50 litros en el tambor aireado.
- **Para el tratamiento en curso**, adicionar al reactor (el cual ahora tiene un volumen de 50 litros) 2 litros de StartSmart y 300 gramos de Activador y llenar con 100 litros de agua. Airear durante **7 días**, luego dosificar 25 litros a cada uno de los 2 estanques de prueba.
- Repetir cada semana el proceso utilizando 2 litros de StartSmart y 300 gramos de Activador).

**Nota 1:** La concentración de amoniaco inicial StartSmart/ StartSmart Activator fue de 192 ppm amoniaco. Al final del arranque inicial del birreactor (14 días de aireación), la concentración de amoniaco fue de cero.

**Nota 2:** El StartSmart utilizado en este experimento fue recibido en la India 18 meses antes del experimento inicial. Fue almacenado en un cuarto aislado a una temperatura de 30 ° C.

## Cambios en el Amoniaco contar el Tiempo.

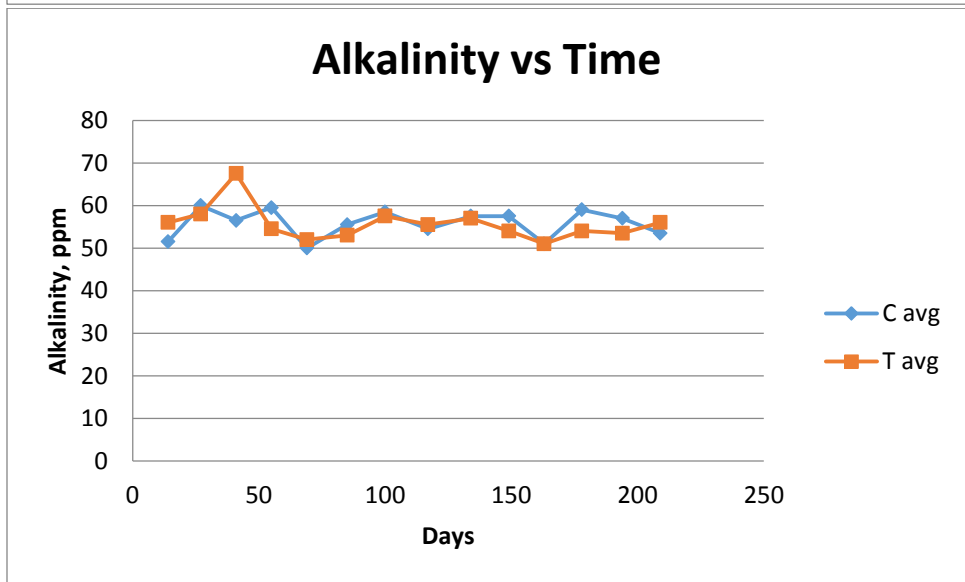
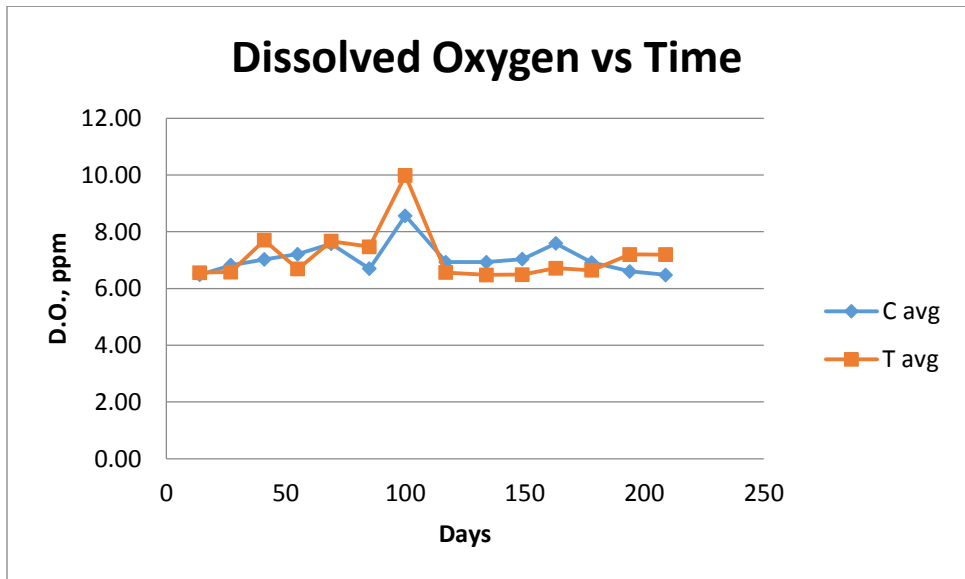
De acuerdo con la manufactura, los cambios esperados en la calidad del agua por la aplicación del StartSmart en los estanques de prueba consisten en la disminución del amoniaco. Lo observado demostró que esta hipótesis es correcta, pues la reducción de amoniaco en los estanques fue observable en las primeras 3 fases del experimento. La gráfica de abajo muestra el promedio de amoniaco en los 2 estanques controlados, comparada con el promedio de amoniaco de los estanques tratados con StartSmart (los de prueba) durante intervalos de 14 días.

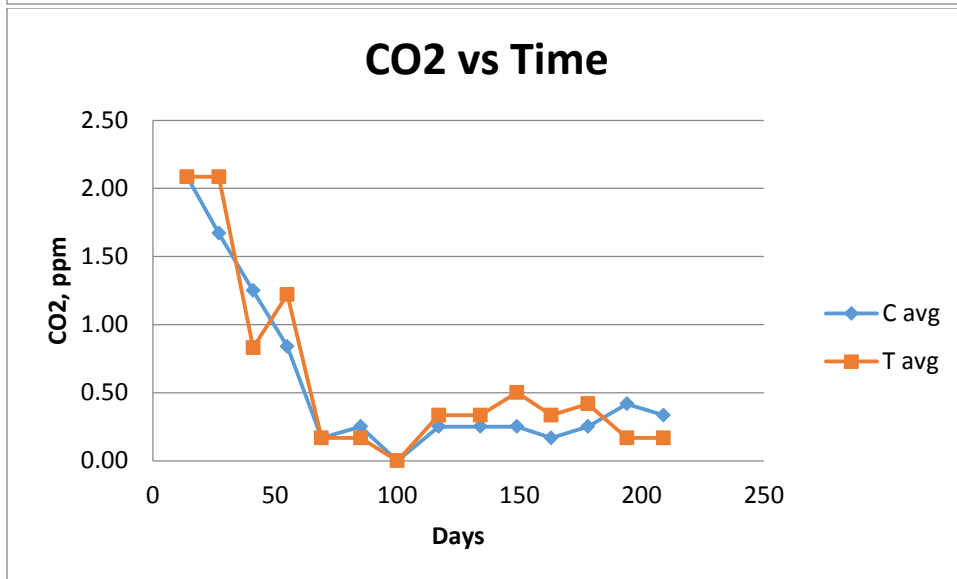
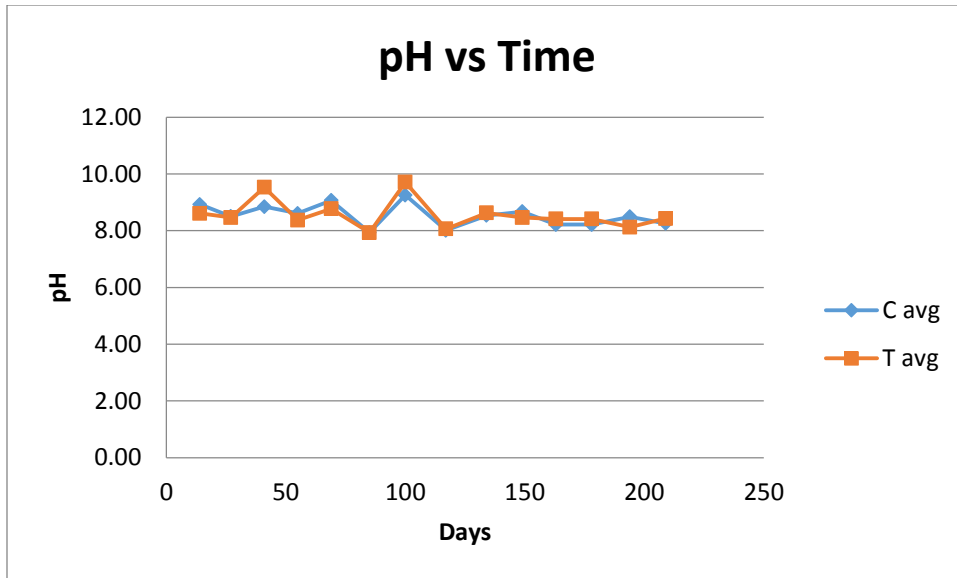


En la gráfica anterior queda claro que hasta el día 100, la diferencia en los niveles de amoníaco es radical. **Es igualmente claro que alrededor del día 100, cuando la dosificación del StartSmart comenzó, apareció una significativa diferencia en los niveles de amoniaco de los estanques controlados y los de prueba, la cual persistió durante todo el estudio.** Además, antes de que se dosificara el StartSmart, los niveles de amoniaco en los cuatro estanques es casi idéntico, lo que valida los protocolos de prueba y de control.

El promedio de amoniaco (no-ionizado) en los estanques controlados del día 100 hasta la finalización del estudio fue de 0.0093, mientras que en los estanques de prueba, el promedio de amoniaco fue de 0.0046 durante el mismo período de tiempo. The average ammonia (un-ionized) in the control ponds from day 100 through the end of the study was 0.0093, while the test pond ammonia averaged 0.0046 during this period. **Una vez que la dosificación del StartSmart comenzara, hubo una reducción del 50% en los niveles de amoniaco, en los estanques de prueba, los cuales persistieron durante 210 días.**

Como se puede ver en la siguiente gráfica, los otros parámetros de calidad del agua no muestran alguna diferencia significativa entre los estanques controlados y los que fueron sometidos a las pruebas.





## Fish Yield /Cosecha

Debido a la reducción en un 50% de los niveles de amoníaco en los estanques de prueba en comparación con los estanques controlados, se espera un incremento en la población de los peces. Las tablas de abajo muestran:

- Promedio de crecimiento (gramos por pez)
- Peces sobrevivientes en los estanques controlados y los de prueba.
- Biomasa total (peso del pez x sobrevivientes )

### Crecimiento Promedio (gramos):

| Estanque   | Después de 210 días |
|------------|---------------------|
| Controlado | 79.43               |
| Prueba     | 98.21               |

### Sobrevivientes

| Estanque | Sobrevivientes de los 18              | Porcentaje |
|----------|---------------------------------------|------------|
| Control  | 16 y 16 (estanques controlados 1 y 2) | 88.9%      |
| Test     | 16 y 16 (estanques de prueba 1 y 2)   | 88.9%      |

### Biomasa de los Peces

| Estanques   | Biomasa (g) | Mean Biomass per Pond (g) | % Incremento (P / C)                 |
|-------------|-------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Controlo 1  | 1191.72     | 1270.88                   | <b>22.3%</b><br><b>De incremento</b> |
| Controlo 2  | 1350.04     |                           |                                      |
| De prueba 1 | 1359.38     | 1554.38                   |                                      |
| De prueba 2 | 1749.67     |                           |                                      |

## Observaciones y Recomendaciones

- El experimento exitosamente evaluó el funcionamiento del StartSmart Performance, comprobando que la calidad del agua en los estanques controlados y de prueba era muy similar durante los primeros 100 días (sin dosificar).
- La dosificación del StartSmart hizo un cambio positivo al reducir los niveles de amoníaco en los estanques de prueba
- Dado que el StartSmart no comenzó a dosificarse hasta el día 100, no existió ninguna posibilidad de adquirir ventaja sobre los estanques controlados. Solo durante la segunda mitad del experimento se pudo apreciar dicha ventaja respecto a la disminución en los niveles de amoníaco.
- Todos los demás parámetros del agua (como se muestra en la tabla) son similares en los estanques de prueba y los controlados (CO<sub>2</sub>, alcalinidad, pH, D.O. y temperatura del agua).
- Dado que casi todos los peces en los estanques controlados y de prueba sobrevivieron, el experimento no cumplió con las expectativas. Si la diferencia de sobrevivientes fuera de entre un 10 y un 20%, entonces si se hubiera cumplió con las expectativas.
- Si se hubiera repetido el experimento con altos parámetros (10,000 por hectárea), muy probablemente se hubieran conseguido un porcentaje de mortalidad más alto, lo que hubiera acreditado la aplicación del StartSmart (reduciendo los niveles de mortandad debido a la disminución de amoníaco, pero también se hubiera sobrepasado los niveles acordados.
- Si se pudiera repetir el experimento, la dosis de StartSmart se debería aplicar durante todo el estudio, y no solo sobre la mitad de este.
- Si estos 2 cambios se realizaran y el experimento se repitiera, entonces esperaríamos observar un resultado final más dramático, debido a que la reducción en los niveles de amoníaco se hubiera mantenido a lo largo de todo el estudio, y los estanques de control experimentarían niveles de mortandad más parecidos a los observados en la naturaleza.
- Debido a que el experimento demostró un incremento del 22.3% en la población de los peces por la aplicación de StartSmart de 18 meses, este experimento no solo confirma la eficacia del StartSmart para incrementar la población de peces, sino que también demuestra la excelente expectativa de vida del StartSmart y el StartSmart Activator a 30°C.