

**EVALUACIÓN DE BACTERIAS AUTÓCTONAS (*Bacillus* sp. y *Lactobacillus* sp.)
CON POTENCIAL PROBIÓTICO EN EL ALIMENTO SUMINISTRADO A ALEVINOS
DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis* sp.) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO EN
LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

**EDY SANTIAGO NARVÁEZ MORA
ELIANA CATHERINE LÓPEZ CABRERA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2021**

**EVALUACIÓN DE BACTERIAS AUTÓCTONAS (*Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.*)
CON POTENCIAL PROBIÓTICO EN EL ALIMENTO SUMINISTRADO A ALEVINOS
DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis sp.*) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO EN
LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

**EDY SANTIAGO NARVÁEZ MORA
ELIANA CATHERINE LÓPEZ CABRERA**

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero en Producción Acuícola**

**Director
ÁLVARO JAVIER BURGOS ARCOS
Zoot, M. Sc., Ph.D Biotecnología**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2021**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones aportadas en este trabajo de grado, son responsabilidad exclusiva de sus autores. **Artículo 1ro del Acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966** emanado por el Honorable Consejo Superior Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN

ÁLVARO JAVIER BURGOS ARCOS
Director Trabajo de Grado

JAIME EDMUNDO RODRÍGUEZ SÁNCHEZ
Jurado Delegado

KATIA LUZ ANDREA BENAVIDES ROMO
Jurado

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

ÁLVARO JAVIER BURGOS ARCOS	Zootecnista, M. Sc., PhD Biotecnología. Profesor de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.
MARCO ANTONIO IMUÉS FIGUEROA	Zootecnista. Director del departamento de Recursos Hidrobiológicos Universidad de Nariño.
CAMILO LENIN GUERRERO ROMERO	Ingeniero en Producción Acuícola Técnico de Laboratorio Universidad de Nariño.
KATIA LUZ ANDREA BENAVIDES ROMO	Médica Veterinaria. Profesora de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.
JAIME EDMUNDO RODRÍGUEZ SÁNCHEZ	Ingeniero en Producción Acuícola. Coordinador de proyectos acuícolas en la Universidad de Nariño.
CARLOS ALFREDO BERNAL MARTÍNEZ	Zootecnista. Técnico de laboratorios de Fisiología y Microbiología animal de la Facultad de ciencias pecuarias.
PIEDAD MEJIA SANTACRUZ	Secretaria del Departamento de Recursos Hídricos.
OSCAR MEJIA SANTACRUZ	Auxiliar del centro de documentación de la Biblioteca Alberto Quijano.
LUIS ALFONSO SOLARTE PORTILLA	Zootecnista, Esp. Secretario Académico Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.

A los demás profesores y funcionarios de la Universidad de Nariño, que contribuyeron para la ejecución de esta investigación y a todas las personas que nos brindaron su apoyo.

Dedicado a:

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, por siempre bendecirme e iluminarme brindándome la salud, bienestar, el conocimiento para tomar las mejores decisiones a través de las personas que puso en mi camino, aportando sus consejos, regaños, orientaciones, información, durante todo el periodo de formación profesional.

A mis Padres, DEYANIRA YOLANDA MORA y EDY ALFREDO NARVAEZ, por darme la vida, ayudarme en cada problema, comprenderme en todos los objetivos que me he propuesto y siempre apoyarme incondicionalmente en todos los momentos buenos y notan buenos, guiándome por el mejor camino a través de sus enseñanzas, consejos, hábitos. A mis Abuelos, y demás familia en especial a mis abuelas ARCELIA QUINTERO y ANA NARVAEZ quienes estuvieron ayudándome en cada aspecto, circunstancias, dándome siempre ánimos y maravillosos consejos para estar enfocado en cumplir cada meta y superar cada obstáculo.

A mis amigos MAYERLIN SANTACRUZ, SONIA JOJOA, KEVIN BOLAÑOS, DANIEL GUERRERO, y en especial ELIANA LOPEZ quien me brindo su atención, comprensión, amabilidad y la oportunidad de poder cumplir mi sueño. Gracias a ustedes, quienes durante toda mi carrera universitaria estuvieron compartiendo cada rama del conocimiento para formarnos no solo como o profesionales sino como personas, además de pasar muchos momentos felices durante nuestro periodo de estudio.

A mis profesores y personal administrativo porque con sus enseñanzas, experiencias, conocimientos, logran orientar y formar personas no solo de calidad profesional, sino también de calidad humana. Forman excelentes Ingenieros en Producción Acuicola.

EDY SANTIAGO NARVAEZ MORA

Dedicado a:

Hoy, he logrado cumplir uno de mis más grandes sueños, ser profesional, le doy gracias a Dios y a la Virgen María por haberme puesto en el camino esta hermosa carrera, por brindarme salud, bienestar y por protegerme en cada paso que he dado, les doy gracias también por darme a mi tesoro más grande mi familia.

Le dedico este triunfo a mis padres, JAIME LÓPEZ y BLANCA CABRERA, gracias por todos los valores inculcados, por estar presentes en cada etapa de mi vida; toda mi vida recordaré sus palabras de amor, comprensión, apoyo y motivación para cumplir mis sueños, dejando quizá de lado los suyos, pero sobre todo gracias por enseñarme el verdadero amor. LOS AMO.

A mi hermana, NATHALIA LÓPEZ, quien ha sido mi confidente y mi mejor amiga, siempre sabré que puedo contar con su apoyo y encuentro en ella un abrigo; a mi cuñado HÉCTOR RODRIGUEZ, que lo considero un gran amigo, a mis sobrinas JULIANA y LUCIANA, quienes hacen de mis días más felices con cada una de sus ocurrencias y locuras.

Al amor de mi vida ALEJANDRO MEDINA, por ser el motor que me impulsa para cumplir mis sueños, acompañándome en cada uno de ellos, por ser mi soporte en momentos de debilidad y mi compañero en mis alegrías. TE AMO.

Y por último y no menos importante, a las personas que Dios puso durante este trayecto, que con el tiempo se convirtieron en mis amigos, porque me llevo de cada uno el más bello recuerdo, a mis profesores, que con sus enseñanzas hicieron más amplios mis conocimientos y sé que me ayudarán a ser una buena profesional especialmente a mi querido profesor ÁLVARO BURGOS, porque desde el primer momento, sin dudarlo, me brindó su mano y a mi gran amigo CARLOS BERNAL, quien siempre estuvo dispuesto a apoyarme en cada etapa. A todos, gracias.

“EL ÉXITO ES LA SUMA DE ESFUERZOS REPETIDOS DÍA A DÍA”

ELIANA CATHERINE LÓPEZ CABRERA.

RESUMEN

El manejo de altas densidades en el cultivo de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) reduce el crecimiento, provoca enfermedades y limita la calidad del agua, esto conlleva a altas tasas de mortalidad y con ello a considerables pérdidas económicas, para combatir estos problemas se ha optado por el uso indiscriminado de productos químicos procesados que pueden llegar a afectar el medio ambiente y la salud humana. Es por esto que ha cobrado importancia la búsqueda de alternativas que sustituyan estos productos, como es la incorporación de probióticos, dado que, al ser un producto natural, resulta siendo menos agresivo para el pez y podría optimizar los indicadores productivos.

Por lo anteriormente expuesto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de bacterias autóctonas con posible potencial probiótico (*Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.*) y un probiótico comercial sobre los parámetros de crecimiento, supervivencia, conversión alimenticia en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) y la determinación de la relación Beneficio/Costo. Las cepas objeto de estudio, fueron aisladas del tracto gastrointestinal de juveniles de tilapia (*Oreochromis sp.*); para su selección, se tuvo en cuenta criterios como tipificación morfológica, algunas pruebas bioquímicas, motilidad, abundancia y cinética de crecimiento. Posteriormente se incorporaron al alimento y se suministró durante un periodo de 60 días en la dieta a razón de 200.000 UFC/g de alimento para todos los tratamientos evaluados a excepción del testigo; además, con el fin de establecer el Incremento de peso y para efectuar ajustes a la ración, se llevaron a cabo muestreos semanales.

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA) con submuestreo; en el que se aplicó cinco tratamientos cada uno con cuatro réplicas; cada unidad experimental contó con 32 peces con un peso inicial promedio de $0,573 \pm 0,093$ g. Los tratamientos planteados fueron: T₀= alimento sin probiótico o tratamiento testigo; T₁= alimento más probiótico comercial; T₂= alimento más aislado de *Bacillus sp.*; T₃= alimento más aislado de *Lactobacillus sp.* y T₄= alimento más consorcio microbiano de *Bacillus sp.* + *Lactobacillus sp.*

De acuerdo con el análisis estadístico, se estableció que no existen diferencias significativas entre los tratamientos a los que se les incorporó el probiótico con relación al tratamiento control en ninguna de las variables zootécnicas evaluadas ($p > 0,05$), demostrando que en condiciones de acuario se dificultó determinar mayor o menor eficiencia de las bacterias tanto comerciales como autóctonas; en cuanto a la relación Beneficio/Costo, a pesar de observarse ligeras diferencias numéricas entre los tratamientos evaluados, estas no se consideran como un efecto de las variables independientes.

Palabras clave: *Oreochromis sp.*, probiótico, *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, crecimiento.

ABSTRACT

The management of high densities in the cultivation of red tilapia (*Oreochromis sp.*) reduces growth, causes diseases and limits the quality of the water, this leads to high mortality rates and with it considerable economic losses, to combat these problems has chosen the indiscriminate use of processed chemicals that can affect the environment and human health. This is why the search for alternatives to replace these products has become important, such as the incorporation of probiotics, since, being a natural product, it is less aggressive for the fish and could optimize the productive indicators.

Due to the above, the objective of the present investigation was to evaluate the effect of native bacteria with possible probiotic potential (*Bacillus sp.* and *Lactobacillus sp.*) and a commercial probiotic on growth parameters, survival, feed conversion in red tilapia (*Oreochromis sp.*) fingerlings and the determination of the Benefit / Cost ratio. The strains under study were isolated from the gastrointestinal tract of juvenile tilapia (*Oreochromis sp.*); for its selection, criteria such as morphological typing, motility, abundance and growth kinetics were taken into account. Later they were incorporated into the food and it was supplied during a period of 60 days in the diet at a rate of 200,000 CFU/g of food; In order to establish the weight increase and to make adjustments to the ration, weekly samplings were carried out.

A completely randomized experimental design (DCA) with subsampling was used; in which five treatments were applied each with four replications; each experimental unit had 32 fish with an average initial weight of 0.573 ± 0.093 g. The proposed treatments were: T₀= food without probiotic or control treatment; T₁= food plus commercial probiotic; T₂= food more isolated from *Bacillus sp.*; T₃= food more isolated from *Lactobacillus sp.* and T₄= food plus microbial consortium of *Bacillus sp.* + *Lactobacillus sp.*

According to the statistical analysis, it was established that there are no significant differences between the treatments to which the probiotic was incorporated in relation to the control treatment in any of the zootechnical variables evaluated ($p > 0.05$), showing that under aquarium conditions it was difficult to determine greater or lesser efficiency of both commercial and native bacteria; regarding the Benefit / Cost ratio, despite observing slight numerical differences between the evaluated treatments, these are not considered as an effect of the independent variables.

Key words: *Oreochromis sp.*, probiotic, *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, growth.

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	17
2. OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GENERAL	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3. MARCO TEÓRICO	21
3.1. LA ACUICULTURA EN COLOMBIA	21
3.2 BIOLOGÍA DE LA ESPECIE	23
3.3 MICROBIOTA INTESTINAL EN ORGANISMOS ACUÁTICOS	26
3.4 PROBIÓTICOS	27
3.4.1 Importancia de los probióticos	28
3.4.2 Probióticos en acuicultura y su importancia	29
3.4.3 Requisitos que deben cumplir los probióticos	31
3.4.3.1. Variabilidad durante el procesamiento y almacenamiento del alimento	31
3.4.3.2. Estabilidad frente a ácidos gástricos y bilis	31
3.4.3.3. Adherencia a la mucosa intestinal	31
3.4.3.4. Producción de sustancias antimicrobianas	31
3.4.4 Mecanismos de acción de los probióticos	32
3.4.4.1. Competencia por nutrientes y energía	32
3.4.4.2. Refuerzo de la barrera gastrointestinal	32
3.4.4.3. Estimulación de la inmunidad	32
3.4.4.4. Probióticos como promotores de crecimiento	32
3.4.4.5. Mejora la calidad del agua	32
3.4.5 Selección de probióticos	33
3.4.5.1. Criterios de Seguridad	33
3.4.5.2. Criterios Tecnológicos	33
3.4.5.3. Criterios de Funcionalidad	33
3.4.6 Beneficios de los probióticos	34
3.4.7 Influencia de los probióticos en la calidad del agua	35
3.4.8 Formas de suministro de probióticos en acuicultura	35
3.4.9 Principales microorganismos utilizados como Probióticos	36
3.4.9.1 <i>Lactobacillus</i>	36
3.4.9.2 <i>Bacillus</i>	37
3.4.10 Uso de probióticos en tilapia	37
3.4.11 Consorcios microbianos	38
3.4.12 Aislamiento e identificación de cultivos bacterianos	39
3.4.12.1 Aislamiento	39
3.4.12.2 Identificación	39
3.4.13 Identificación de bacilos mediante pruebas bioquímicas	40
3.4.13.1 Oxidasa	40
3.4.13.2 Catalasa	41
3.4.13.3 Prueba de Sulfuro Indol Motilidad (SIM)	41
3.4.13.4 Prueba Triple Sugar Iron (TSI)	41

3.4.13.5 Tinción de endosporas, técnica de de Schaeffer-Fulton, 1933	41
3.4.14 Conteo de unidades formadoras de colonias	42
3.4.15 Sistemas de recirculación acuícola (SRA)	42
4. MATERIALES Y MÉTODOS	44
4.1 LOCLIZACIÓN Y PERIODO DE ESTUDIO	44
4.2 MAERIALES, EQUIPOS E INSUMOS	44
4.2. Materiales	44
4.2.2 Equipos.	45
4.3 Insumos.	45
4.3 MATERIAL BIOLÓGICO	46
4.4 OBTENCIÓN DE CEPAS MICROBIANAS	47
4.4.1 Identificación de bacterias <i>Bacillus sp.</i> y <i>Lactobacillus sp.</i>	48
4.4.2 Conteo de bacterias y cinética de crecimiento de <i>Bacillus sp.</i> y <i>Lactobacillus sp.</i>	50
4.5 PREPARACIÓN DEL ALIMENTO COMO DIETA EXPERIMENTAL	50
4.6 DESCRIPCIÓN DE INSTALACIONES	51
4.7 PLAN DE MANEJO	52
4.8 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	53
4.8.1 Tratamientos.	54
4.8.2 Formulación de hipótesis.	54
5. RESULTADOS	56
5.1 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA DE CEPAS AISLADAS CON POSIBLE POTENCIAL PROBIÓTICO	56
5.2 PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE LAS CEPAS CON POSIBLE POTENCIAL PROBIÓTICO	58
5.3 UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC) OBTENIDAS EN CADA DILUCIÓN Y CINÉTICA DE CRECIMIENTO	58
5.4 INCREMENTO DE PESO	62
5.4.1 Tasa de crecimiento simple de peso	63
5.5 SUPERVIVENCIA	63
5.6 CONVERSIÓN ALIMENTICIA APARENTE (CAA)	64
5.7 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DEL AGUA	65
5.7.1 Temperatura.	65
5.7.2 Oxígeno disuelto	65
5.7.3 Potencial de Hidrógeno (pH).	65
5.7.4 Nitritos.	66
5.7.5 Nitratos.	66
5.7.6 Nitrógeno Amoniacal Total (NAT).	67
5.8 RELACIÓN BENEFICIO/COSTO	67
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	70
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	78
7.1 CONCLUSIONES	78
7.2 RECOMENDACIONES	79
8. BIBLIOGRAFÍA	80
9. ANEXOS	95

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Tratamientos experimentales relacionados con la distribución del alimento más probiótico en los tratamientos.....	54
Tabla 2. Resultados pruebas bioquímicas de cepas aisladas y cepas de referencia	58
Tabla 3. Unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas en cada dilución.	59
Tabla 4. Costos parciales en la investigación.	68
Tabla 5. Relación Beneficio /Costo.	69

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Campus Universidad de Nariño, sede Torobajo, Pasto.	44
Figura 2. A. Extracción de intestinos de Tilapia Roja (<i>Oreochromis</i> sp.); B. Maceración de intestinos.	47
Figura 3. Sistemas de Recirculación Acuícola (RAS).	52
Figura 4. <i>Bacillus</i> sp. (Cepa 1).	56
Figura 5. <i>Bacillus</i> sp. (Cepa 2).	56
Figura 6. <i>Lactobacillus</i> sp. (Cepa 3).	57
Figura 7. <i>Lactobacillus</i> sp. (Cepa 4).	57
Figura 8. Lectura de Unidades Formadoras de Colonias. A. <i>Bacillus</i> sp. cepa 1. B. <i>Bacillus</i> sp. cepa 2. C. <i>Lactobacillus</i> sp. cepa 3. D. <i>Lactobacillus</i> sp. cepa 4. ..	59
Figura 9. Cinética de crecimiento bacteriano <i>Bacillus</i> sp. cepa 1 y 2.	61
Figura 10. Cinética de crecimiento bacteriano <i>Lactobacillus</i> sp. cepa 3 y 4.	62
Figura 11. Incremento de peso promedio por tratamiento (g).	62
Figura 12. Tasa de crecimiento simple para peso	63
Figura 13. Supervivencia en los tratamientos	64
Figura 14. Conversión alimenticia aparente (CAA).	64
Figura 15. Comportamiento semanal de temperatura	65
Figura 16. Comportamiento semanal de oxígeno.	65
Figura 17. Comportamiento semanal de pH.	66
Figura 18. Cantidad de Nitritos en el agua.	66
Figura 19. Cantidad de Nitratos en el agua,	67
Figura 20. Cantidad de Nitrógeno Amoniacal Total en el agua.	67

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Pesos iniciales promedio por tratamiento	95
Anexo B. Análisis de Varianza (ANOVA) para peso inicial	96
Anexo C. Muestreo de peso por individuo semanal de cada tratamiento	97
Anexo D. Peso promedio semanal por tratamiento (g)	103
Anexo E. Incremento de peso promedio por tratamiento (g)	104
Anexo F. Tasa de crecimiento Simple	105
Anexo G. Análisis de Varianza (ANOVA) para incremento de peso mediante el modelo de Tasa de crecimiento simple para peso	111
Anexo H. Tasa de crecimiento simple promedio de peso por tratamiento	112
Anexo I. Porcentaje de Supervivencia por tratamiento	113
Anexo J. Supervivencia prueba de Brand-Snedecor.....	114
Anexo K. Cálculo de Biomasa y consumo de alimento semanal	115
Anexo L. Conversión Alimenticia Aparente Total por tratamiento (CAA)	120
Anexo M. Conversión Alimenticia Aparente (CAA) promedio por tratamiento	121
Anexo N. Prueba de Kruskal-Wallis para CAA por tratamiento	122
Anexo O. Temperatura durante el periodo de estudio	123
Anexo P. Oxígeno Disuelto durante el periodo de estudio	125
Anexo Q. pH durante el periodo de estudio	127
Anexo R. Nitritos durante el periodo de estudio	129
Anexo S. Nitratos durante el periodo de estudio.....	130
Anexo T. Nitrógeno Amoniacal Total durante el periodo de estudio	131
Anexo U. Cálculo para conteo de Unidades Formadoras de Colonias UFC	132
Anexo V. Cálculo relación Beneficio/Costo	133
Anexo W. Cálculo relación Beneficio/Costo por tratamiento	134

GLOSARIO

ACUICULTURA: conjunto de actividades, técnicas y conocimientos de crianza de especies acuáticas vegetales y animales.

ASLAMIENTO BACTERIANO: separación de un determinado microorganismo del resto de microorganismos que le acompañan.

ALEVINO: estado larval de peces desde la eclosión hasta el final de la dependencia del vitelo como fuente de nutrición.

ALIMENTO PROBIÓTICO: organismos vivos adicionados que permanecen activos en el intestino en cantidad suficiente como para alterar la microbiota intestinal del huésped.

ANTIBIÓTICO: sustancia que tiene la capacidad de eliminar o de interrumpir el crecimiento y la proliferación de diversos microorganismos patógenos.

BACTERIA: organismo microscópico unicelular, carente de núcleo, que se multiplica por división celular sencilla o por esporas.

CEPA: población de microorganismos de una sola especie descendientes de una única célula o que provienen de una determinada muestra en particular

CINÉTICA MICROBIANA: se encarga de entender todas las manifestaciones y reacciones de la vida microbiana: crecimiento, supervivencia, muerte, adaptaciones, formación de producto, ciclos celulares e interacciones con el medio ambiente.

COLONIA: agrupación de un conjunto de microorganismos de un mismo tipo.

DIETA: conjunto de sustancias alimenticias que un ser vivo toma habitualmente.

EFICACIA: capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera'.

EFICIENCIA: capacidad de disponer de algo para conseguir el cumplimiento adecuado de una función.

ESPORAS: cuerpo microscópico unicelular o pluricelular que se forma con fines de dispersión y supervivencia.

HOSPEDERO: organismo que alberga a otro en su interior o que lo porta sobre sí.

MICROBIOTA INTESTINAL: comunidad de microorganismos vivos residentes en el intestino.

MICROORGANISMO: ser vivo o sistema biológico que solo puede visualizarse con el microscopio.

PARÁMETRO FÍSICO-QUÍMICO: información extensa de la naturaleza química del agua y sus propiedades físicas.

PROTEÍNA: molécula compuesta de aminoácidos que el cuerpo necesita para funcionar de forma adecuada.

TINCIÓN: técnica utilizada en microscopía para mejorar el contraste en la imagen vista al microscopio.

1. INTRODUCCIÓN

La Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca – AUNAP¹, menciona que La pesca y la acuicultura en Colombia representan dos grandes sectores que contribuyen a la economía local, ya que de acuerdo con Blanco de la Hoz y Estévez², el país cuenta con un importante potencial que facilita el desarrollo sostenible de estas prácticas, debido a su riqueza hídrica y sus condiciones topográficas y climatológicas relativamente estables. Según el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural³, la piscicultura a nivel nacional, se desarrolla en diez departamentos, destacándose el Huila con un aporte del 43% y el Meta con 14,6%, como los principales productores.

Por su lado, Procolombia⁴ manifiesta que el departamento de Nariño concentra más del 50% de las compañías camaroneras, convirtiéndose en pionero y especialista en esa industria, sin embargo, según el Ministerio de Agricultura⁵, desde el 2018 se ha venido adelantando planes de ordenación pesquera incluyente y participativa que promueven el crecimiento del sector piscícola, pero requiere de estrategias y medidas que lo faciliten y que permita la expansión de cultivos de especies que conforme con lo mencionado por Blanco de la Hoz y Estévez⁶ son consideradas económicamente promisorias como la Tilapia roja, producto que de acuerdo con el Ministerio de Agricultura⁷ se ha posicionado como uno de los principales servicios acuícolas a nivel nacional (65,3%) siendo éste el más exitoso, ya que en los últimos años ha aumentado su exportación hasta un 34% debido, probablemente, a que el país está libre de vetos sanitarios a nivel internacional y según Castillo por la "aparente facilidad de cultivo de la especie"⁸.

Cabe mencionar, que la FAO⁹ y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural¹⁰, indican que los principales proveedores de Tilapia (*Oreochromis sp.*) a nivel mundial

¹ AUNAP. Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca. Plan Nacional para el Desarrollo de la Acuicultura Sostenible en Colombia – PlaNDAS. Introducción. Bogotá D.C.: Imprenta Nacional de Colombia, 2014. 6 p. ISBN: 978-958-57974-3-7

² BLANCO DE LA HOZ, Jesús y ESTÉVEZ, David. Proyecto empresarial “Empresa productora de tilapia y servicios para la producción piscícola. Suteki innovation SAS”. Trabajo de grado Zootecnista. Bogotá: Universidad de ciencias aplicadas y ambientales. Facultad de ciencias pecuarias, 2019. 16 p.

³ Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Estrategia de política para el sector de pesca y acuicultura. El sector de la pesca y la acuicultura en Colombia. Bogotá D.C., 2019. 2-6 p.

⁴ PROCOLOMBIA. Inversión en el sector de la acuicultura. ¿Por qué invertir en el sector de la acuicultura en Colombia?. Bogotá D.C., 2016. 5 p.

⁵ Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Estrategia de política para el sector de pesca y acuicultura. Op. cit., p. 12.

⁶ BLANCO DE LA HOZ y ESTÉVEZ. Op. cit., p. 16.

⁷ Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Estrategia de política para el sector de pesca y acuicultura. Op. cit., p. 6.

⁸ CASTILLO CAMPO, Luis Fernando. Tilapia roja. Una evolución de 25 años, de la incertidumbre al éxito. Cali, Colombia. 2006. p. 4.

⁹ FAO. 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Comercio y productos del pescado. Roma, 2014. p. 66. Disponible en internet: <<http://www.fao.org/3/a-i3720s.pdf>>

¹⁰ Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Agenda productiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la tilapia. Análisis de la cadena productiva de la tilapia. Bogotá D.C.: Giro Editores Ltda.,

son países asiáticos; sin embargo, Castillo¹¹ afirma que hay un acelerado crecimiento en el comercio de la especie en países suramericanos sin tradición acuícola como Colombia, donde acorde con lo señalado por García, *et al*¹² y Vela, *et al*¹³, se satisface sus requerimientos nutricionales mediante dietas artificiales completas, no obstante, debido a las condiciones de cultivo, como la alta densidad de siembra o la limitada calidad de agua, los peces están sujetos a estrés constante que conlleva al desarrollo de enfermedades, bajas tasas de crecimiento y de eficiencia alimenticia traduciéndose en graves pérdidas económicas.

Para evitar estos problemas se ha generado la búsqueda de alternativas que mejoren la eficiencia y eficacia de la producción acuícola, una de dichas opciones, de acuerdo con Vela *et al*¹⁴, es el uso de microorganismos benéficos a los que se les ha denominado probióticos, los cuales representan, una opción para mejorar la salud y el crecimiento de los organismos y cuyo efecto según García *et al*¹⁵, está relacionado con la elaboración de metabolitos que generan antagonismo contra patógenos, estimulan el sistema inmune, protegen la mucosa intestinal, mejoran la calidad del agua y a su vez mejoran la alimentación de las especies por medio de la producción de enzimas que ayudan a la digestión y absorción de nutrientes en el tracto gastrointestinal.

En este sentido Vela *et al*¹⁶, indican que el conocimiento del uso de probióticos puede sustituir el uso de productos comerciales al ser un tratamiento menos agresivo y posiblemente permita innovar en biotecnología enfocada en el aislamiento del probiótico de ecosistemas específicos o de la flora microbiana autóctona de la especie de interés, pasando por su caracterización, procesamiento para poder incorporarla nuevamente mediante la dieta del animal, hasta optimizar indicadores productivos como el incremento de peso y talla; lo anterior permite proponer alternativas viables que mejoren la efectividad de cultivo y la producción de especies de alta demanda, en este caso de la Tilapia roja (*Oreochromis sp.*), manteniendo el concepto de sostenibilidad sin afectar la salud humana, contrario a lo que puede estar generando el uso de sustancias antibióticas.

Es por ello, que en el presente estudio se pretendió determinar el efecto de la utilización de consorcios microbianos autóctonos específicamente de los géneros *Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.*, como potenciales probióticos aislados a partir de juveniles silvestres de Tilapia (*Oreochromis sp.*), comparando los resultados en cuanto a ganancia de peso, conversión alimenticia aparente y supervivencia con los

2007. 21 p. ISBN: 978-958-97128-4-9. Disponible en internet: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4999/1/2008313115612_Tilapia.pdf>

¹¹ CASTILLO CAMPO, Luis Fernando. Op. cit., p. 8.

¹² GARCÍA, R.; GUTIÉRREZ, L. y DAVID, C. El uso de los probióticos en la industria acuícola. En: Alimentos hoy. Diciembre, 2015. vol. 23, no. 36, p. 165 - 166.

¹³ VELA, Y.; CONTRERAS, M. y SUAREZ, L. Effect of probiotic microorganisms isolated from *Hypostomus plecostomus* in *Oreochromis sp* juveniles. En: Revista MVZ Córdoba. Enero, 2017. vol. 22, no. 1, p. 5695.

¹⁴ *Ibíd.*, p. 5695.

¹⁵ GARCÍA, GUTIÉRREZ y DAVID. Op. cit, p. 171.

¹⁶ VELA, CONTRERAS y SUAREZ. Op. cit., p. 5695-5696.

obtenidos frente a un probiótico comercial, a pesar de no presentarse diferencias estadísticas entre las variables evaluadas, estos resultados llevan a considerar que en el departamento de Nariño se debe continuar en la investigación de la búsqueda de alternativas biotecnológicas, que permitan el mejoramiento de la eficiencia y eficacia de los sistemas de producción acuícola.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar bacterias autóctonas *Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.* con potencial probiótico, en el alimento suministrado a alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) bajo condiciones de laboratorio en la Universidad de Nariño.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar, identificar y masificar el cultivo de bacterias *Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.* de un consorcio microbiano con posible potencial probiótico a partir de la microbiota del tracto digestivo de alevinos (*Oreochromis sp.*).
- Evaluar los parámetros: incremento de peso, conversión alimenticia aparente y porcentaje de supervivencia, mediante el uso de un probiótico comercial y un posible consorcio microbiano aislado del tracto digestivo de alevinos de tilapia roja.
- Determinar la relación beneficio-costos parcial en base a la alimentación de los diferentes tratamientos.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. LA ACUICULTURA EN COLOMBIA

La OCDE¹⁷ al igual que Blanco de la Hoz y Estévez¹⁸ mencionan que la pesca y la acuicultura en Colombia, a lo largo del tiempo se han practicado en diferentes zonas costeras tanto del Pacífico como del atlántico, así como también en aguas interiores, dado que el país cuenta con un importante potencial para el desarrollo sostenible de dichos sectores por su ubicación geográfica, pues cuenta con una gran riqueza hídrica tanto continental como marina que consta de 3.000 Km de costa, más de 20 millones de hectáreas de ecosistemas acuáticos tales como lagos, estanques, embalses y canales, y más de 700.000 microcuencas, además cuenta con condiciones topográficas y climatológicas relativamente estables que facilitan el desarrollo de estas prácticas.

La OCDE señala que “Dichos sectores son muy importantes en Colombia, ya que contribuyen a la economía local por generar empleo, reducción de pobreza, seguridad alimentaria gracias al aporte nutricional y además, por generar divisas; sin embargo en los últimos diez años, la pesca y la acuicultura han seguido caminos opuestos de crecimiento: la primera ha disminuido significativamente debido principalmente a la sobreexplotación de especies marinas para las que se facilitaron datos, por el contrario, la acuicultura está creciendo rápidamente reflejando las tendencias mundiales”¹⁹.

En cuanto a la acuicultura, el Ministerio de Agricultura, 2018, citado por Blanco de la Hoz y Estévez²⁰, indica que la política agropecuaria colombiana y el marco del Programa de Cadenas Productivas PROAGRO, han identificado dos líneas en el país, que son el cultivo de camarón y la Piscicultura de agua dulce continental, no obstante, es en esta última donde se registra mayor número de empleos debido probablemente al incremento en su producción global del 8,54% desde el 2007 hasta el 2017, en comparación con la camaronicultura que ha decrecido en un 11,20% en el mismo periodo.

Según el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural²¹, la piscicultura a nivel nacional, se desarrolla en diez departamentos, destacándose el Huila y el Meta como los principales productores aportando el 43% y 14,6% respectivamente, seguido de Antioquia, Tolima, Cundinamarca y Boyacá que aportan, cada uno el 5%

¹⁷ OCDE. 2016. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. Colombia. En: Pesca y acuicultura en Colombia. Disponible en internet: <https://www.oecd.org/colombia/Fisheries_Colombia_SPA_rev.pdf>

¹⁸ BLANCO DE LA HOZ y ESTÉVEZ, Op. cit., p. 12.

¹⁹ OCDE. Op. cit., p. 6-10.

²⁰ Ministerio de Agricultura, 2018, Citado por BLANCO DE LA HOZ y ESTÉVEZ, Op. cit., p. 16-17.

²¹ Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Estrategia de política para el sector de pesca y acuicultura. Bogotá, Colombia., Op. cit., p. 3-16.

de la producción total. Los principales productos piscícolas, son la Tilapia (roja o nilótica) (65,3%), seguido de Cachama (21,5%) y la Trucha (7,6%), siendo la Tilapia el principal representante de la piscicultura continental desde que fue introducida al país en 1982 de acuerdo con Núñez²²,. El mismo autor también menciona que Colombia y Costa Rica abrieron las puertas para el desarrollo de esta industria en América Latina exportando el producto a Estados Unidos.

Cabe mencionarse, que la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura²³ y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural²⁴, indican, que los principales proveedores de Tilapia a nivel mundial, son países asiáticos como China, Tailandia, Filipinas y Taiwán, sin embargo, hay un acelerado crecimiento en la piscicultura comercial de la especie, en países suramericanos sin tradición acuícola como en Colombia; donde su exportación ha incrementado aceleradamente en los últimos años, por ejemplo durante el 2018 se elevó un 34% en comparación con el 2017, dicho aumento se debe probablemente, a que el país está libre de vetos sanitarios a nivel internacional y a la "aparente facilidad de cultivo de la especie".

Por su parte, Procolombia²⁵ afirma que el departamento de Nariño concentra más del 50% de las compañías camaroneras, convirtiéndose en pionero y especialista en esa industria, principalmente en la zona de Tumaco donde fueron construidas las primeras camaroneras experimentales del comúnmente llamado camarón blanco de cultivo (*Litopenaeus vannamei* y *L. Stylirostris*); sin embargo, desde el 2018 se han venido adelantando planes de ordenación acuícola incluyente y participativa que promueven el crecimiento del sector piscícola en el departamento, teniendo gran potencial, pues según Fedeacua, 2018 citado por Blanco de la Hoz y Estévez²⁶, se ha interesado por extender principalmente, cultivos de Trucha, pero, se requiere de estrategias y medidas que faciliten esta práctica y que además, permitan la expansión de cultivos de especies consideradas económicamente promisorias y exitosas por su alta productividad como la Tilapia roja (*Oreochromis* sp.), debido a lo anterior es necesario adelantar investigaciones enfocadas en promover alternativas que permitan el cultivo sostenible de dicha especie.

²² NUÑEZ DE LA ROSA, Melisa Gisela. Evaluación preliminar de las poblaciones bacterianas asociadas al tracto intestinal de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) expuesta a aceites esenciales de orégano en la dieta. Tesis de Magister en Ciencias-Microbiología. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, 2011. 5 p.

²³ FAO. Op. cit., p. 66.

²⁴ Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Op. cit., p. 8-21.

²⁵ PROCOLOMBIA. Op. cit., p. 5-26

²⁶ Fedeacua, 2018, Citado por Blanco de la Hoz y Estévez, Op. cit., p. 16-17.

3.2 BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

Según Lim & Webster, 2006, citado por Nuñez, 2011²⁷, “Tilapia” es un término genérico utilizado para denominar a un grupo de más de 100 especies de peces de valor comercial que pertenecen a la familia Cichlidae e incluye los géneros Tilapia, Oreochromis, Sarotherodon, entre otros; las Tilapias son peces endémicos originarios de África y el Cercano Oriente y como menciona Nuñez²⁸ y Peterson²⁹, se destacan por la rusticidad para su manejo dadas las características zootécnicas como ser de rápido crecimiento, de fácil reproducción durante todo el año con cuidado parental y su talla mínima de maduración sexual que les confiere gran habilidad para invadir y establecerse en casi cualquier tipo de ecosistemas acuáticos, además, por su adaptabilidad a condiciones en ocasiones extremas como alta salinidad o baja concentración de oxígeno y por su alta resistencia a enfermedades.

La Tilapia se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Clase: Teleostomi

Superclase: Actinopterygii

Superorden: Acanthopterygii

Orden: Perciformes

Suborden: Percoidei

Familia: Cichlidae

Género: Oreochromis

Especie: *Oreochromis sp* (Trewavas, 1983)

Nombre científico: *Oreochromis sp*

Nombre común: Tilapia roja, mojarra roja, pargo de agua dulce, red snapper³⁰

León³¹ señala que las etapas del ciclo de vida de las Tilapias han sido bien definidos iniciando como huevo, alevín, cría, juvenil y adulto, reproduciéndose entre 6 y 8

²⁷ LIM, C. y WEBSTER, C. Tilapia: biology, culture and nutrition, 2006, Citado por NUÑEZ DE LA ROSA, Melisa Giset. Op. cit., p. 5.

²⁸ NUÑEZ DE LA ROSA. Op. cit., p. 5.

²⁹ PETERSON, Mark; SLACK, William; BROWN-PETERSON, Nancy y McDONALD, Jennifer. Reproduction in Nonnative Environments: Establishment of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, in Coastal Mississippi Watersheds. En: Copeia, 2004. Vol. 2004, N° 4. Department of Coastal Sciences. Jackson, Mississippi. p. 845.

³⁰ ENRIQUEZ, Julio y ORDOÑEZ, Gabriela. Evaluación del efecto de la hormona 17 alfa-metiltestosterona, en la inducción al sexo de embriones de tilapia roja (*Oreochromis sp*). Trabajo de grado Ingeniero en producción acuícola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Departamento de Recursos hidrobiológicos, 2010. 27 p.

³¹ LEÓN SÁNCHEZ, Rafael. Caracterización biológica y productiva de cinco líneas de tilapia del género *Oreochromis spp* (Pisces: *Cichlidae*), que se cultivan en México. Trabajo de grado de Doctor en Ciencias Biológicas. Guadalajara: Universidad de Guadalajara México. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, 2001. 6 p.

veces al año en temperaturas mayores a los 24°C, alcanza la talla comercial en un lapso de 6 a 12 meses con 250 – 500g, dependiendo de la temperatura, alimentación, densidad de siembra, calidad genética y manejo.

Además, Arredondo³² asegura que los representantes de la familia Cichlidae, se caracterizan por presentar coloración atractiva, el cuerpo comprimido y generalmente discoidal, raramente alargado; el macho más grande que la hembra. La boca es protráctil, generalmente ancha y a menudo con labios gruesos. Presentan dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos. Pueden o no presentar freno en el maxilar inferior en la parte media debajo del labio. Las membranas branquiales están unidas por 5 ó 6 radios branquiostegos y se presentan branquiespinas en número variable según la especie. La parte anterior de las aletas dorsal y anal siempre es corta y consta de varias espinas y la parte terminal posee radios suaves los que en los machos están fuertemente pigmentados. La aleta caudal está redondeada, trunca o raramente escotada. La línea lateral está interrumpida presentándola en dos partes, la porción superior se extiende desde el opérculo hasta los últimos radios de la aleta dorsal, mientras que en la porción inferior aparecen varias por debajo de donde termina la línea lateral superior y se continúa hasta el final de la aleta caudal. Presentan escamas de tipo cicloideo; el número de vértebras puede ser de 8 a 40.

En cuanto a la alimentación, Saavedra, menciona que “El género *Oreochromis* se clasifica como Omnívoro, por presentar alta diversidad en los alimentos que ingiere, desde vegetación macroscópica hasta algas unicelulares y bacterias tendiendo hacia el consumo de zooplancton”³³, Gámez *et al*³⁴ aseguran que entre su comida también se encuentran insectos, peces y plantas, este tipo de dieta es la que posiblemente sea la base de su éxito colonizador; además, Saavedra³⁵ manifiesta que presenta branqui-espinas con las que puede filtrar el agua para obtener su alimentación, ya que ésta contiene algas y otros organismos acuáticos microscópicos. Los alimentos ingeridos pasan a la faringe donde son mecánicamente desintegrados por los dientes faríngeos, ayudando en el proceso de digestión y absorción en el intestino, el cual mide de 7 a 10 veces más que la longitud del cuerpo del pez.

Por otra parte, Martínez y Mendoza³⁶ afirman que en estanques con una carga considerable de alimento complementario, la producción natural aporta de un 30%

³² ARREDONDO, José Luis y GUZMÁN, Manuel. Actual situación taxonómica de las especies de la tribu tilapiini (Pisces: Cichlidae) introducidas en México. *En*: Ser. Zool. Enero, 1986. Vol. 56, N°. 2, p. 555-572.

³³ SAAVEDRA MARTINEZ, Maria Auxiliadora. 2006. Manejo del cultivo de Tilapia. Managua, 2006. p. 6. Disponible en internet: <<http://www.crc.uri.edu/download/MANEJO-DEL-CULTIVO-DE-TILAPIA-CIDEA.pdf>>

³⁴ GÁMEZ, Dáninso; MORÓN, Eliana y FUENTES, Juan. Descripción del hábito alimentario de doce especies de peces asociados a la ciénaga grande de Santa Marta, Colombia. *En*: Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras – INVEMAR. Junio, 2014. vol. 43, no. 1, p. 37.

³⁵ SAAVEDRA. Op. cit., p. 6.

³⁶ MARTÍNEZ, Víctor y MENDOZA, Wilber. Comportamiento del crecimiento de juveniles de tilapia *Oreochromis niloticus*, utilizando alimento comercial: para tilapia al 28% vs para camarón al 30%. Trabajo de grado Ingenieros

a 50% al crecimiento de la tilapia, además puede llegar a aceptar otros tipos de alimentos de origen natural como el polvillo de arroz, harina de soya, trigo, maíz, plantas acuáticas y en general todo resto de productos naturales, así como también acepta sin problemas los alimentos artificiales o balanceados.

Respecto a la forma de cultivo, León³⁷ menciona que es muy variable ya que se puede cultivar en estanques rústicos, jaulas, estanques circulares y “raceways”; a una temperatura que según Brito³⁸, fluctúa entre 28°C y 32°C, aunque puede estar 5°C por debajo del rango óptimo; otros autores como Borja³⁹, indican que las tilapias al ser peces de origen tropical, tienen mejor crecimiento entre los 24°C y los 30°C. En cuanto al Oxígeno disuelto, Saavedra⁴⁰, ha determinado que la tilapia soporta bajas concentraciones, aproximadamente 1 mg/l e incluso en períodos cortos soporta rangos inferiores, sin embargo a menor concentración de oxígeno, el consumo de alimento se reduce, por consiguiente el crecimiento de los peces también, por lo tanto, lo más conveniente son valores mayores de 2 ó 3 mg/l, particularmente en ausencia de luz. Finalmente, para Carvajal⁴¹, el valor mínimo de pH puede encontrarse en 4.5, pero los valores deseados para el cultivo de tilapia roja se encuentran entre 6.0 y 8.5, aunque tolera hasta un límite de 10.5.

Además de todas las características mencionadas anteriormente, Nuñez⁴² asegura que el sabor y las características nutricionales de su carne, han hecho que la Tilapia se posicione en el segundo lugar de los peces dulceacuícolas más cultivados en el mundo y en Colombia es el principal producto acuícola de tipo continental ya que aporta aproximadamente el 75% de la producción total. Sin embargo, las Tilapias al igual que otras especies de peces de cultivo se han visto altamente afectadas por microorganismos, especialmente bacterias, que provocan enfermedades y elevadas tasas de mortalidad, dichos problemas han sido solucionados mediante el uso de antibióticos o estimulantes de crecimiento, pero esto acarrea otros problemas como generar resistencia y/o el costo económico que representa su utilización, además de la transferencia de resistencia a los humanos mediante la cadena alimenticia.

acuícolas. León: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Facultad de Ciencias y Tecnología, 2015. 12 p.

³⁷ LEÓN SÁNCHEZ. Op. cit., p. 7.

³⁸ BRITO, Fredy. Efecto de la reutilización del agua en la crianza y producción de tilapia roja. Trabajo de grado Ingeniero agropecuario. Cuenca: Universidad de Azuay. Facultad de Ciencia y Tecnología, 2009. 6 p.

³⁹ BORJA, Francisco; GONZÁLES, Luis y QUINTERO, Victoria. Evaluación de alternativas para climatización de estanques con energía solar para cultivo de tilapia roja (*Oreochromis sp*), localizados en la zona fría del Valle del Cauca, Colombia. En: Revista Facultad Nacional de Agronomía. Mayo, 2006. vol. 59, no.1, p. 3296.

⁴⁰ SAAVEDRA. Op. cit., p. 7.

⁴¹ CARVAJAL ECHEVERRI, Juan Pablo. Comparación de Parámetros zootécnicos y de calidad de agua de tres sistemas de precría de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en el Municipio de Puerto Triunfo. Trabajo de grado Zootecnista. Caldas: Corporación Universitaria Lasallista, Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias, 2014. 17 p.

⁴² NUÑEZ DE LA ROSA. Op. cit., p. 1-2.

Vela *et al*⁴³, señalan que actualmente las investigaciones se están orientando a buscar alternativas a dichos productos, siendo el uso de microorganismos benéficos a los que se les ha denominado probióticos, aislados de ecosistemas específicos o de la flora microbiana autóctona de las especies, tal es el caso de la microbiota intestinal, una de las opciones más viables y menos agresivas con el medio ambiente y con el hombre debido a que en cantidades adecuadas, a nivel *in vitro* han demostrado claramente ser promotores de crecimiento.

3.3 MICROBIOTA INTESTINAL EN ORGANISMOS ACUÁTICOS

Estudios microbiológicos realizados por Cahill⁴⁴ al igual que Al-Harbi y Uddin,⁴⁵ en el año 2004; y más adelante, los últimos autores en otra investigación llevada a cabo en el año 2005⁴⁶ sobre el tracto gastrointestinal (TI) de peces, evidenciaron la presencia de poblaciones bacterianas asociadas a este órgano, revelando una alta variedad de microorganismos; que comúnmente se les ha denominado “microbiota intestinal”, haciendo referencia, de acuerdo con Monroy *et al*⁴⁷, al ecosistema microbiano que coloniza el tracto digestivo y constituye la principal superficie de intercambio entre el medio externo y el medio interno de cualquier organismo.

Luis⁴⁸ menciona que la microbiota intestinal de los organismos acuáticos es importante en el mantenimiento de la salud de los mismos, ya sea previenen la colonización de patógenos, contribuyen en la degradación de alimentos, producción de compuestos antimicrobianos, producción de nutrientes y mantenimiento de la mucosa normal inmunitaria. Además, según Dorman y Deans⁴⁹, el sitio de acción de estos microorganismos aparentemente es la capa fosfolipídica y mediante mecanismos bioquímicos que incluyen la inhibición del transporte de electrones, translocación proteínica, pasos de fosforilización y otras reacciones dependientes de enzimas

Además, Escobar *et al*, afirman:

⁴³ VELA, CONTRERAS y SUAREZ. Op. cit., p. 5695.

⁴⁴ CAHILL, Marian. Bacterial Flora of Fishes: A Review. *En*: Microbial Ecology. Enero, 1990. vol. 19, no. 21-41, p. 38.

⁴⁵ AL- HARBI, Ahmed y UDDIN, Naim. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia. *En*: Aquaculture. Mayo, 2004. vol. 229, no. 1, p. 42.

⁴⁶ AL- HARBI, Ahmed y UDDIN, Naim. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. *En*: Aquaculture 250. Diciembre, 2005. vol. 250, no. 3-4, p. 571.

⁴⁷ MONROY, María, *et al*. Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos acuáticos. *En*: ContactoS. 2012. vol. 85, p. 45.

⁴⁸ LUIS VILLASEÑOR, Irasema Elizabeth. Efecto de probióticos en la modulación de la microbiota intestinal y respuesta inmune del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Trabajo de grado de Doctor en ciencias. La Paz: Centro de investigaciones biológicas del Norte, S.C. Programa de Estudios de Posgrado, 2012. 5 p.

⁴⁹ DORMAN, H y DEANS, S. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *En*: Journal of Applied Microbiology. Febrero, 2000, vol. 88, no. 2, p 314.

El tracto gastrointestinal de peces dulceacuícolas y marinos, se caracteriza por ser un nicho ecológico favorable para el desarrollo de una gran cantidad de microorganismos ya que la población de bacterias benéficas y patógenas observada en el intestino de los animales es normalmente más abundante comparada con la que se encuentra en el medio exterior, sin embargo, los microorganismos de este último y sus variaciones estacionales, influyen de manera determinante en los géneros y las especies que se puedan encontrar en la microflora de los animales⁵⁰.

Los mismos autores, mencionan que “En la actualidad es aceptado que los peces tienen una microflora intestinal específica que se vuelve estable al llegar la etapa adulta. En los peces de agua dulce los grupos dominantes presentes en el tracto gastrointestinal pertenecen a los géneros *Aeromonas*, *Pleisomonas*, *Pseudomonas* mientras que en los peces marinos la flora está dominada por los géneros *Vibrio* y *Pseudomonas*”⁵¹. Del mismo modo, Betancourt⁵² menciona a los géneros *Bacillus* sp. y *Lactobacillus* sp., como otros géneros dominantes además de los mencionados anteriormente. Sin embargo estos microorganismos tienen la opción de vivir en asociación o bien de manera independiente⁵³.

3.4 PROBIÓTICOS

Según Rodríguez:

“Los probióticos son microorganismos vivos que al ser ingeridos en la dieta pueden mejorar las condiciones sanitarias y favorecen las condiciones fisiológicas activando el sistema inmunológico del hospedero, ayudan a balancear la microbiota intestinal, disminuyen la tasa de mortalidad y funcionan como complemento nutricional”⁵⁴.

Se debe agregar que la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura⁵⁵, también afirma que es un suplemento bacteriano vivo que beneficia al huésped mejorando su balance intestinal.

⁵⁰ ESCOBAR, Laura; OLVERA, Miguel y PUERTO, César. Avances Sobre la Ecología Microbiana del Tracto Digestivo de la Tilapia y Sus Potenciales Implicaciones. Mérida: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Mérida. 2006. p. 111-112.

⁵¹ *Ibid.*, p. 111.

⁵² BETANCOURT, Diana. Efecto de *Lactobacillus plantarum* Lab 9 sobre el crecimiento y sobrevivencia de alevinos y juveniles de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). Trabajo de grado Biólogo. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias exactas y naturales. Departamento de Biología, 2014. 36 p.

⁵³ *Ibid.*, p. 8.

⁵⁴ RODRÍGUEZ ORTIGOZA, Angélica. Probióticos en la producción piscícola. Trabajo de grado de Especialista en Biotecnología Agraria. Neiva: Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD. Facultad de Ciencias Agrarias, Pecuarias y del Ambiente – ECAPMA, 2017. 13 p.

⁵⁵ FAO. 2006. Probióticos en los alimentos, propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Roma, 2006. p. 3.

Por otra parte Ringo *et al*⁵⁶, señalan que en cuanto a la biodiversidad microbiana intestinal de las especies acuícolas se conoce muy poco, la evaluación del potencial de bacterias con actividad probiótica en peces como Tilapia roja, constituye un punto de partida para la nutrición funcional de ellos mismos, con especies probióticas nativas, las cuales pueden llegar a reemplazar o reducir el uso de antibióticos promotores de crecimiento, generando producción limpia y el aumento de absorción alimentaria.

De acuerdo con Gutiérrez⁵⁷, la mayoría de los probióticos propuestos como agentes de control biológico pertenecen a los géneros de *Lactobacillus sp.*, *Lactococcus sp.*, *Carnobacterium sp.*, *Pediococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Vibrio (Vibrio alginolyticus)* y *Bacillus sp.* entre otros.

Espinoza⁵⁸ indica que la microbiota autóctona es reconocida por su importante modo de actuar dentro de los organismos acuáticos sobre la estructura, función y metabolismo del tracto digestivo debido a que se encuentran adaptados a las condiciones ambientales, poseen un excelente potencial y mejor exclusión competitiva; la competencia por nutrientes y espacio, gracias a la capacidad de adherirse y colonizar las zonas mucosas, todos estos son probables métodos de protección frente a patógenos.

Además Escobar *et al*⁵⁹ afirman que actualmente se realizan estudios con la finalidad de seleccionar y caracterizar bacterias aisladas del tracto gastrointestinal de la tilapia, que pudieran tener potencial como probióticos de acuerdo a sus modos de acción, para que generen efectos benéficos en el uso del alimento, en el crecimiento, en la supervivencia y en el sistema inmune de la tilapia. Para cumplir con dicho objetivo, en un estudio citado por el autor mencionado anteriormente, se aislaron e identificaron bacterias ácido lácticas del tracto gastrointestinal de la tilapia nilótica, las cuales se utilizaron para la evaluación de antagonismos bacteriano *in vitro* contra 10 cepas de bacterias patógenas, en el que se observó que las bacterias ácido lácticas autóctonas aisladas del tracto digestivo de la tilapia presentaron habilidad para inhibir el crecimiento de los diferentes patógenos.

3.4.1 Importancia de los probióticos. Gutiérrez *et al*, 2013, afirman:

⁵⁶ RINGO, Einar, *et al*. Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. *En: Aquaculture Research*. Marzo, 2010. vol 41, p. 451.

⁵⁷ GUTIÉRREZ RAMÍREZ, Luz Adriana. Caracterización de cepas de *Bacillus sp* y Bacterias ácido lácticas con actividad probiótica en el tracto digestivo de Tilapia roja (*Oreochromis sp.*) como potencial consorcio para procesos de microencapsulación. Trabajo de grado de Doctora en Biotecnología. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, 2016. 7-8 p.

⁵⁸ ESPINOZA, Ítalo. Usos y aplicaciones de probióticos en el cultivo de camarón y sus mecanismos de acción. Trabajo de grado Ingeniero acuícola. Machala: Universidad técnica de Machala. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2017. 9-10 p.

⁵⁹ ESCOBAR, OLVERA y PUERTO, Op. cit., p. 122-123.

Algunos de los problemas más recurrentes en las prácticas de manejo intensivo en los animales de granja son los desbalances causados por la presencia de bacterias entéricas, las cuales provocan disminución en la digestión y absorción de nutrientes y, por lo tanto, el retardo en la producción, sin contar con otros factores exógenos que pueden provocar la ruptura del equilibrio intestinal, que disminuyen considerablemente la barrera inmune, al posibilitar a los patógenos, la implantación, la adhesión y la proliferación en las células epiteliales del intestino⁶⁰.

Es por esto que Noguera⁶¹ indica que una característica de gran importancia de las bacterias probióticas es la eliminación de bacterias patógenas y oportunistas, la cual es llevada a cabo por diferentes vías, como lo son: por exclusión competitiva que es la competencia por espacio que se establece entre la biota benéfica del intestino y las bacterias patógenas y por la inhibición del crecimiento que se presenta debido a la reducción de sustancias esenciales o nutrientes.

Cabe señalar que según Tovar *et al*,⁶², se ha puesto especial atención en aquellos microorganismos que contrarrestan la invasión de patógenos y aumentan la salud del hospedero al incrementar su resistencia contra éstos, y en aquellos también que aporten moléculas de importancia fisiológica para el hospedero.

Mahecha⁶³, reporta un experimento basado en la comparación del efecto de un promotor de crecimiento convencional (terramicina) y un probiótico comercial (a base de *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus faecium*) en *Oreochromis niloticus*; dónde la mejor ganancia en peso fue observada en los individuos alimentados con el probiótico, con lo cual se deduce que ésta es una opción viable como promotor de crecimiento.

3.4.2 Probióticos en acuicultura y su importancia. Versechuere *et al*, citados por Ortega y Fuertes⁶⁴, establecen que los microorganismos presentes en el medio

⁶⁰ GUTIÉRREZ, Luz Adriana; MONTOLYA, Olga; VÉLEZ, Juliana. Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. *En*: Producción + Limpia. Junio, 2013. vol. 8, no.1, p. 137.

⁶¹ NOGUERA SEGURA, Carolina. Aislamiento, identificación y valoración *In vitro* del potencial probiótico de cepas bacterianas nativas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). Trabajo de grado Biólogo marino. Santa Marta: Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de ciencias naturales, 2009. 12 p.

⁶² TOVAR, D., *et al*. Efecto de la administración de levaduras en el proceso de maduración del tracto digestivo de peces. *En*: Avances en Nutrición Acuicola V (19-22, noviembre: Yucatán, México). Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición, 2000. p. 34.

⁶³ MAHECHA, Catalina. Efecto de la inclusión de probióticos y prebióticos sobre el desempeño productivo y la sobrevivencia de alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) variedad chitralada. Trabajo de grado Bióloga marina. Bogotá: Fundación universitaria de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Facultad de biología marina, 2006. 16 p.

⁶⁴ VERSCHUERE, *et al*. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *En*: Microbiology and Molecular Biology Review. 2000. vol. 64, no. 4, p. 655-671, Citados por ORTEGA, Lorena y FUERTES, Karina. Evaluación de bacterias con potencial probiótico en la alimentación de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Trabajo de grado Ingenieras en producción acuícola. Tumaco: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. Departamento de Recursos Hidrobiológicos, 2015. 42 p.

ambiente acuático están en contacto directo con los animales, con las branquias y con los alimentos suministrados, con fácil acceso a la zona digestiva del animal; dichos microorganismos son patógenos y son considerados como oportunistas, es decir, se aprovechan de la situación de un animal (de alta densidad, la mala alimentación) para causar infección e incluso la muerte.

Es por esto que según García *et al*⁶⁵, la FAO designó el uso de los probióticos como una alternativa importante para mejorar la calidad del medio ambiente acuático. Además, es importante mencionar que de acuerdo con la FAO⁶⁶, la mayoría de estudios a nivel mundial sobre los efectos de los probióticos en animales acuáticos cultivados han revelado una reducción en la mortalidad y una mayor resistencia contra los agentes patógenos oportunistas. Por su parte, Noguera⁶⁷, señala que las bacterias probióticas son una fuente de nutrientes y enzimas que aportan al mejoramiento de la digestibilidad y aumento en calidad del agua por la metabolización de la materia orgánica, también contribuyen a la reducción de desechos nitrogenados y fósforo, y el control de amonio y nitritos en el medio.

El mismo autor menciona que la utilización de bacterias probióticas ha tomado auge, ya que los resultados han sido exitosos convirtiéndose en una práctica habitual en el sector acuícola.

Cabe señalar que para Soto y González⁶⁸, uno de los factores más importantes del probiótico, es que permite reemplazar el uso de antibióticos para el control de enfermedades puesto que no matan a las bacterias patógenas, sino que compiten contra ellas ya que impiden su desarrollo y contribuyen al “equilibrio” biológico en los tanques de cultivo.

De acuerdo con Rodríguez:

“Los probióticos usados en acuicultura son principalmente de los géneros *Vibrio*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, bacterias ácido-lácticas *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Shewanella*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Clostridium*, y *Saccharomyces*”⁶⁹.

⁶⁵ GARCÍA, GUTIÉRREZ y DAVID. Op. cit., p. 172.

⁶⁶ FAO. 2010. Departamento de Pesca y Acuicultura. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma, 2010. p. 107.

⁶⁷ NOGUERA. Op. cit., p. 13.

⁶⁸ SOTO, Norman y GONZÁLEZ, Elvis. Efecto del uso de tres tratamientos de probióticos sobre algunos parámetros poblacionales y biológicos de los estadios desde Nauplio Cinco (N5) A Postlarva Uno (PL1) de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en el laboratorio LARVINIC, Las Peñitas, León, Nicaragua. Trabajo de grado Licenciados en Biología. León: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Facultad de Ciencia y Tecnología, 2009. 8 p.

⁶⁹ RODRIGUEZ ORTIGOZA. Op. cit., p. 13.

3.4.3 Requisitos que deben cumplir los probióticos. Según Salazar y Montoya⁷⁰ las cepas de microorganismos probióticos deben presentar y conservar unas características que garanticen su crecimiento y supervivencia en el alimento que lo contiene o al que se adiciona, entre los cuales se citan:

3.4.3.1. Variabilidad durante el procesamiento y almacenamiento del alimento.

Se refiere a la capacidad que tienen estos microorganismos de permanecer vivos, tanto en el alimento como en el intestino del consumidor durante un tiempo determinado.

3.4.3.2. Estabilidad frente a ácidos gástricos y bilis. Estos microorganismos deben resistir las concentraciones de ácido y sales biliares del estómago o intestino delgado de los seres humanos y animales.

3.4.3.3. Adherencia a la mucosa intestinal. Los microorganismos probióticos tienen la capacidad de sintetizar un biosurfactante de composición glicoproteica, el cual favorece la adhesión, y de esta manera compiten con los microorganismos enteropatógenos e impiden que éstos colonicen en el intestino.

3.4.3.4. Producción de sustancias antimicrobianas. Esto se explica cuando estos microorganismos metabolizan carbohidratos, sintetizan compuestos como: ácido láctico, fórmico, acético; peróxido de hidrógeno, aniones súper óxido y radicales hidroxilo; dióxido de carbono, diacético, acetaldehído e isómeros D de aminoácidos.

Igualmente, Acevedo y Tavares⁷¹, afirman que otros de los requisitos que deben cumplir dichos microorganismos son:

- Adhesión a las células de la mucosa intestinal
- Capacidad de colonización
- Mantenerse con vida durante un largo período de tiempo
- Producción de sustancias antimicrobianas contra las bacterias patógenas
- Ausencia de translocación

González y González⁷², manifiestan que los probióticos tienen que ser microorganismos que además de cumplir con los principales requisitos deben ser capaces de soportar las condiciones de la producción industrial y mantener gran parte de su viabilidad durante el almacenamiento, en muchas ocasiones en refrigeración o congelación. De no ser así, de nada servirá que un alimento

⁷⁰ SALAZAR, Blanca y MONTTOYA, Olga. Importancia de los Probióticos y Prebióticos en la salud humana. En: Vial, revista de la facultad de química farmacéutica. Marzo, 2003.vol.10, no. 2, p. 22.

⁷¹ AZEVEDO, Rafael; TAVARES, Luis. Use of Probiotic in Aquaculture, En: INTECH, 2012. Capítulo 6, p. 104.

⁷² GONZÁLEZ, Fabián; GONZÁLEZ, Edelia. Criterios de calidad de los microorganismos probióticos y evidencias sobre efectos hipocolesterolémicos. En: Revista Salud Pública y Nutrición. Marzo, 2006. vol. 7, no. 1, p. 2.

contenga estos microorganismos ya que no podrá desarrollar sus efectos beneficiosos por estar lesionados o muertos.

3.4.4 Mecanismos de acción de los probióticos. De acuerdo con Monroy *et al*⁷³, los probióticos ejercen diversas acciones que están relacionadas con la salud mediante diferentes mecanismos, los cuales se describen a continuación:

3.4.4.1. Competencia por nutrientes y energía. Los compuestos químicos y la energía disponible son factores que determinan la coexistencia y dominancia de las diferentes poblaciones bacterianas en el tracto digestivo, entre los microorganismos existe una fuerte competencia por los nutrientes que hay en el medio y por ende por la energía que puede obtenerse de éstos.

3.4.4.2. Refuerzo de la barrera gastrointestinal. Se explica como la capacidad que tienen diferentes probióticos para prevenir el incremento, la permeabilidad y el paso de bacterias y macromoléculas de la dieta a través de la mucosa que podrían ocasionar daños graves para el hospedero.

3.4.4.3. Estimulación de la inmunidad. Las bacterias probióticas tienen una acción estimulante sobre el sistema inmunitario del huésped, ya que actúan sobre las células implicadas tanto en la inmunidad natural como en la inmunidad específica. Se ha observado que éste tipo de microorganismos favorecen la producción de anticuerpos, en estudios recientes se han reportado efectos positivos en la respuesta inmune de la tilapia.

3.4.4.4. Probióticos como promotores de crecimiento. El metabolismo de la microbiota intestinal representa una parte importante en toda la actividad bioquímica que se desarrolla en el organismo y tiene una gran influencia en el estado nutritivo de éste, pues permite la generación de nutrientes asimilables a partir de compuestos complejos no digeribles en la parte superior del tracto gastrointestinal, así como la biodisponibilidad de minerales, vitaminas del grupo B y aminoácidos esenciales como la lisina, adquiridos por el metabolismo microbiano.

3.4.4.5. Mejora la calidad del agua. Ésta característica ha sido asociada a *Bacillus sp.*, porque convierte la materia orgánica en productos asimilables por los animales, como aminoácidos, dextrinas y oligosacáridos disponibles. Del mismo modo, García *et al*⁷⁴, mencionan que otro tipo de mecanismo de acción de los probióticos, es la competencia por el espacio para la adhesión y la colonización del intestino en contra de los microorganismos patógenos. Por otra parte, Sorroza *et al*⁷⁵, afirman que dichos probióticos son capaces de dar aportes benéficos al proceso digestivo del

⁷³ MONROY, *et al.* Op. cit., p. 15-16.

⁷⁴ GARCÍA, GUTIÉRREZ y DAVID. Op. cit., p. 171.

⁷⁵ SORROZA *et al.* Uso de probióticos en acuicultura. En: Rev. Canaria de las Ciencias Veterinarias. 2010. p. 53.

hospedero mediante la generación de macro y micronutrientes y la contribución de enzimas digestivas.

3.4.5 Selección de probióticos. Iñiguez *et al*⁷⁶, mencionan que después de la identificación y caracterización inicial de una cepa se continúa con la selección a través de ensayos in vivo e in vitro. Algunos aspectos, incluyendo el origen, la seguridad, funcionalidad y las características protecnológicas, tienen que ser considerados durante la selección de cepas probióticas, a continuación, se indican dichos puntos:

3.4.5.1. Criterios de Seguridad. Criterio de origen: este criterio se basa en razones ecológicas, y toma en consideración el hábitat original del microorganismo para ser seleccionado como probiótico potencial.

Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS): para reconocer a un microorganismo como GRAS se toma en cuenta la taxonomía, patogenicidad, producción de toxinas, resistencia a antibióticos, historia de uso seguro en los alimentos, medio ambiente en el que se aisló. La viabilidad en el alimento es una consideración importante para la evaluación de la seguridad, así como la sobrevivencia al tránsito gastrointestinal o si es residente común en el intestino.

3.4.5.2. Criterios Tecnológicos. Deben ser tolerantes a la presencia de oxígeno y deben ser tolerantes a la presencia de ácido y sales biliares.

3.4.5.3. Criterios de Funcionalidad. Villamil y Martínez⁷⁷, mencionan que la selección de microorganismos con actividad probiótica también se puede determinar por la capacidad de generar productos extracelulares (ECPS) que pueden inhibir o matar otras bacterias potencialmente patógenas, entre ellos sustancias antibacteriales.

Por otra parte, Toledo *et al*⁷⁸, indican que en el caso de los microorganismos probióticos, la colonización y adhesión en el tracto gastrointestinal, es uno de los criterios más importantes para su selección y aplicación en acuicultura. Además, Villaseñor e Irasema⁷⁹, mencionan que otro criterio es la capacidad de crecimiento en los organismos de cultivo.

⁷⁶ IÑIGUEZ, C.M; BOLADO, E y ACEDO, E. Probióticos: Principios y aplicaciones prácticas. Capítulo 10. En: Los Alimentos Funcionales – Un Nuevo Reto Para La Industria De Alimentos. Enero, 2014. p. 268-275.

⁷⁷ VILLAMIL, Luisa y MARTÍNEZ, María Angélica. Probiotics as a biotechnological tool in shrimp culture: A review. En: Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR. 2009. vol. 38, no. 2, p. 169.

⁷⁸ TOLEDO, Adrián; CATILLO, Néstor; CARRILLO, Olimpia y ARENAL, Amílcar. Probióticos: una realidad en el cultivo de camarones. En: Revista de Producción Animal. 2018. vol. 30, no. 2, p. 57

⁷⁹ VILLASEÑOR, Luis e IRASEMA, Elizabeth. Caracterización de microorganismos con potencial probiótico aislados del intestino del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y la glándula digestiva del ostión del placer *Crassostrea corteziensis*. Trabajo de grado de Master en ciencias. Sonora: Universidad de Sonora. Departamento de investigaciones científicas y tecnológicas, 2007. 7 p.

3.4.6 Beneficios de los probióticos. De acuerdo con Altamirano⁸⁰:

- Compiten con los patógenos por sitios de fijación evitando infecciones.
- Protegen y estimulan a los animales.
- Aportan enzimas que pueden incrementar o mejorar la asimilación de nutrientes del alimento.
- Compiten por nutrientes con cepas patógenas.
- No provocan la aparición de resistencia bacteriana.
- Aplicación económica y relativamente sencilla.
- Amigable con el ambiente.

El mismo autor afirma:

Los principales beneficios esperados de estos probióticos difieren con las especies (peces o crustáceos de agua dulce, salobre o marina), el estado del cultivo (larva, juvenil, reproductores) y el sistema de crianza (flujo continuo o recirculación, tanques, estanques o jaulas). La forma de aplicación y la gestión de las instalaciones (apropiadas medidas de bioseguridad, renovación del agua, químicos, etc.) podrían afectar la supervivencia o permanencia de los microorganismos en el ambiente de crianza y/o el huésped⁸¹.

Por otra parte, Rodríguez⁸², indica que los microorganismos probióticos son capaces de reducir considerablemente los sólidos del fondo ya que contienen grupos de bacterias agresivas en digestión y enzimas especializadas que de manera directa logran acelerar la eliminación de los desechos de la especie en explotación, residuos de plancton y alimento no consumido, así como el de favorecer el sistema inmunológico y preservar la mucosa del intestino.

Así mismo, Gutiérrez *et al*⁸³, mencionan que el uso de probióticos puede mejorar el crecimiento, debido a sus efectos beneficiosos sobre los procesos digestivos y por mejorar la tolerancia al estrés, además de generar un efecto importante en el ecosistema intestinal y mejorar las funciones productivas de los animales.

⁸⁰ ALTAMIRANO, Carlos. Evaluación de la efectividad del Probiótico “*Sanolife Pro*” en estanques de cultivo de camarones “*Litopenaeus vannamei*” en la Granja Acuicultura Torrecillas, Chinandega, Nicaragua, en el periodo comprendido de Junio a Septiembre, 2008. Trabajo de grado Ingeniero Acuicola. León: Universidad Autónoma de Nicaragua. Facultad de ciencias y tecnología, 2009. 7 p.

⁸¹ *Ibíd.*, p. 7.

⁸² RODRIGUEZ. Op. cit., p. 16.

⁸³ GUTIÉRREZ, Luz; DAVID, Carlos; MONTOYA, Olga y BETANCUR, Eliana. Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *En: Revista Salud Animal*. Agosto, 2016. vol. 38, no. 2, p. 113-114.

3.4.7 Influencia de los probióticos en la calidad del agua. Jimbo⁸⁴ manifiesta que en acuacultura se manejan diferentes sistemas de cultivo que van desde extensivo a súper-intensivo, donde se acumula materia orgánica (organismos muertos, materia fecal alimento no utilizado etc.) en el fondo de los estanques, produciéndose una disminución de la calidad del agua. De ahí proviene la importancia la utilización de probióticos que ayuden a mejorar la calidad del agua.

El mismo autor menciona que la mejora en la calidad del agua ha sido asociada al género *Bacillus sp.* debido a que las bacterias Gram-positivas invierten mejor la materia orgánica a CO₂ que las bacterias Gram-negativas, altos niveles de bacterias Gram-positivas pueden reducir las partículas de carbono orgánico disuelto. Se ha reportado que la utilización de *Bacillus sp.* mejora la calidad del agua aumentando el crecimiento, sobrevivencia de los animales y las condiciones sanitarias del cultivo, además, reduce los *Vibrios* patógenos.

En estudios realizados por Flores, citado por Gutiérrez *et al*⁸⁵, encontraron que al adicionarle probióticos al agua, los peces sometidos al tratamiento con probióticos presentaron la mayor ganancia de peso, además de presentar la tasa específica de crecimiento más alta, con respecto a las otras dietas. En dicha investigación también se determinó que la conversión alimenticia más baja la tenían los animales alimentados con probióticos. En peces como la Tilapia, las conversiones alimenticias indican una alta absorción de nutrientes.

3.4.8 Formas de suministro de probióticos en acuacultura. Sánchez⁸⁶ menciona que la forma de aplicación dependerá del tipo de probiótico que se suministre a los estanques acuícolas. Estos microorganismos pueden ser añadidos través de fermentación de levaduras en combinación con melaza y la adición de sustratos microporosos que contienen los probióticos elaborados comercialmente dentro de ellos.

El mismo autor afirma que “Otra forma de suministro es mediante la bioencapsulación, el cual es un proceso en donde un organismo vivo incorpora un determinado producto (probiótico) mediante vía oral”⁸⁷. Por otra parte Jimbo⁸⁸,

⁸⁴ JIMBO JARAMILLO, Jefferson Israel. Uso de probióticos en el cultivo de camarón como alternativa a la prevención de enfermedades. Trabajo de grado Ingeniero Acuicultor. Machala: Universidad Técnica de Machala. Carrera de Ingeniería Acuícola, 2018. 11 p.

⁸⁵ FLORES, M; BRIONES, L y NOVOA, M. Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). En: Nutrición acuícola Memorias del Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. 2002. vol. 6, p. 314-335, Citado por GUTIÉRREZ, DAVID, MONTOYA y BETANCUR. Op. cit., p. 117.

⁸⁶ SANCHEZ DE LA CRUZ, José Miguel. Empleo de probióticos en el sector acuícola. Trabajo de grado Licenciado en Biología Marina y manejo integral de cuencas. Tonalá: Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Instituto de Ciencias Biológicas Chiapas, 2014. 11-12 p.

⁸⁷ *Ibíd.*, p. 12.

⁸⁸ JIMBO. Op. cit., p. 14.

asegura que los probióticos pueden ser utilizados en alimentos vivos como rotíferos y artemia e infusiones en la dieta.

Igualmente, Kumar *et al*⁸⁹, indican que la administración de bacterias probióticas, es posible realizarlas a través del alimento, estas pueden ser adicionadas directamente en los pellets de los balanceados a una temperatura adecuada, además menciona que a pesar de que el suministro de probióticos mediante la dieta es sencillo, su viabilidad debe ser comprobada.

Melgar *et al*⁹⁰, mencionan un estudio realizado, donde se aplica un probiótico comercial al agua, siendo ésta otra manera de suministro de dichos microorganismos a los cultivos, asegura que la metodología sugerida para la aplicación de bacterias probióticas, es mediante la inoculación en un sustrato a base de melaza y agua para su activación, manteniéndose en fermentación durante siete días alcanzando una temperatura entre 36.5°C a 37°C, además señala que para obtener buenos resultados es importante mantener una frecuencia de aplicación durante todo el ciclo de cultivo y que por lo general se recomienda aplicarlo semanalmente.

3.4.9 Principales microorganismos utilizados como Probióticos.

3.4.9.1 *Lactobacillus*. Estela *et al* mencionan que “el género *Lactobacillus* está comprendido por bacterias en forma bacilar de 0,5-1,2 x 1,0-10,0 nm, comúnmente se asocian en cadenas cortas, son anaerobias facultativas, catalasa y citocromo negativos, son bacilos Gram positivo. Excepcionalmente pueden poseer motilidad, se mueven ayudados por flagelos peritricos. Los lactobacilos necesitan medios complejos para su crecimiento, degradan la sacarosa para producir lactato. La temperatura óptima de crecimiento de los lactobacilos está entre 30-40 °C. Su hábitat natural es variado pudiéndolos encontrar en el aparato gastrointestinal”⁹¹.

Cabe señalar que Vásquez *et al*⁹², mencionan que en peces alimentados con *Lactobacillus sp.*, se ha observado una mayor protección contra las enfermedades infecciosas, mejoramiento de la respuesta inmune, incremento de la actividad fagocítica, mejoramiento de parámetros productivos como ganancia de peso dado que las propiedades de estas bacterias benéficas permiten mejorar la utilización de nutrientes en los peces.

⁸⁹ KUMAR, Vikash; ROY, Suvra; KUMAR, Dharmendra y KUMAR, Uttam. Application of probiotics in shrimp aquaculture: Importance, mechanisms of action, and methods of administration. *En: Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. Junio, 2016. vol. 24, no. 4, p. 345-346.

⁹⁰ MELGAR, Carolina, *et al*. Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) en cultivo intensivo. *En: Revista Biología tropical*. Septiembre, 2013. vol. 61, no. 3, p. 12-17.

⁹¹ ESTELA, Waldir, *et al*. Producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* L10 en cultivos batch y continuo. *En: Revista Peruana de Biología*. Diciembre, 2007. vol. 14, no. 2, p. 4.

⁹² VÁSQUEZ, M.; RONDÓN, I. y ESLAVA, P. Inmunoestimulantes en teleósteos: Probióticos, β-glucanos y LPS. *En: Orinoquía*. Junio, 2012. vol. 16, no. 1, p. 54.

3.4.9.2 *Bacillus*. Milián *et al*, indican que “Desde el punto de vista microbiológico, las bacterias del género *Bacillus* se consideran Gram positivas, son bacilos de gran tamaño (4-10 µm), tienen forma de bastoncillo y están agrupadas en cadenas, son móviles y poseen flagelación períttrica. Forman endosporas, son anaerobias estrictas o facultativas. No son bacterias adherentes y son productoras de sustancias antimicrobianas, así como de enzimas hidrolasas”⁹³. Por otra parte Villarreal *et al*, manifiestan que “Su crecimiento óptimo ocurre a pH neutro, presentando un amplio intervalo de temperaturas de crecimiento, aunque la mayoría de las especies son mesófilas (temperatura entre 30°C y 45°C), su diversidad metabólica está asociada a la promoción del crecimiento vegetal y control de patógeno”⁹⁴.

3.4.10 Uso de probióticos en tilapia. Corrales, 2015, afirma:

Para lograr alcanzar una alta producción de proteína proveniente de la acuicultura se necesita alimento de alta calidad, los probióticos comunes utilizados para la producción de tilapia son: *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Streptococcus faecium* y *Lactobacillus acidophilus*. Los probióticos al estar en el tracto gastrointestinal, producen enzimas que permite a la tilapia utilizar un mayor número de carbohidratos, ayudan a la activación de la producción de enzimas digestivas (amilasas, proteasas y lipasas), permitiendo un mayor aprovechamiento de nutrientes y un mejor funcionamiento del sistema inmunológico, alimentación eficiente y exclusión de patógenos⁹⁵.

Es por esto que, Ospina⁹⁶ asegura que en investigaciones en las que se usan los probióticos en algunas especies de peces cultivados como tilapia durante diferentes fases de desarrollo, se han obteniendo óptimos resultados al realizar infecciones experimentales con bacterias patógena además de demostrar que tiene efectos benéficos sobre el incremento en peso.

El mismo autor, menciona que se han realizado estudios en los que se suplementan dietas artificiales con probióticos, con el propósito de conocer sus efectos en el crecimiento y aprovechamiento del alimento en crías de tilapia nilótica y de otros peces en sistemas experimentales de cultivo en fase de larvas,

⁹³ MILIÁN, Gretel; PÉREZ, M. y BOCOURT, R. Empleo de probióticos basado en *Bacillus sp.* y de sus endospora sen la producción avícola. En: Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 2008. vol. 42, no. 2, p. 119.

⁹⁴ VILLARREAL, M.; VILLA, E.; CIRA, L. y ESTRADA, I. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. En: Revista mexicana de fitopatología. Enero, 2018. vol. 36, no. 1, p. 101.

⁹⁵ CORRALES, Cornelia. Uso de promotores de crecimiento *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis* en el alimento de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). Trabajo de grado Ingeniera Agrónoma. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana. Carrera de agroindustria alimentaria, 2015. 2 p.

⁹⁶ OSPINA, Amparo. Evaluación de *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* como agentes probióticos sobre la resistencia a infecciones e incremento en peso de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). Trabajo de grado Biólogo marino. Santa Marta: Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Ciencias Naturales, 2009. 16-17 p.

concluyendo que las bacterias probióticas favorecieron el crecimiento y la eficiencia alimenticia.

Además, en un estudio realizado por Cota *et al*⁹⁷ donde se evaluó el efecto de prebióticos y microorganismos con potencial probiótico en la supervivencia y crecimiento de la tilapia, se observó que la supervivencia fue del 100% en los tres tratamientos en los que se realizó la prueba y el crecimiento fue significativamente mayor que el control sin aditivos, en las tilapias alimentadas con bacterias ácido lácticas (BAL) y prebióticos.

3.4.11 Consorcios microbianos. Ochoa *et al.*,⁹⁸ mencionan que un consorcio microbiano es una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que actúan en conjunto como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás. Funcionalmente, un consorcio microbiano supera la suma de sus partes; sus miembros mantienen la compatibilidad metabólica y ecológica siempre y cuando las transformaciones ambientales que se generan permitan que ellos coexistan cercanamente.

El mismo autor señala que un consorcio microbiano puede desempeñar funciones complicadas que poblaciones individuales no podrían; además, la vida en asociación puede presentar mayor resistencia a los cambios ambientales y favorecer la estabilidad de los miembros, en el tiempo, por otro lado, Sandoval⁹⁹, asegura que la asociación de varias especies de microorganismos presentes en un determinado nicho ecológico, tienen la finalidad de desempeñar funciones metabólicas interrelacionadas y procesos específicos para su sobrevivencia que generan productos finales y/o subproductos metabólicos específicos. De esta manera, un consorcio microbiano puede ser considerado como tal de acuerdo al ecosistema en el que se encuentre.

En contraste con lo anterior Cruz *et al* afirma: “En un sistema microbiano el crecimiento celular forma poblaciones; las poblaciones metabólicamente relacionadas se denominan gremios y el conjunto de estas agrupaciones interaccionan formando comunidades microbianas. Por lo tanto, las comunidades microbianas consisten en poblaciones de células de varias especies; que

⁹⁷ COTA, L; LUNA, A; FIERRO, J y ALMARAZ, J. Efecto de prebióticos y microorganismos con potencial probiótico en la supervivencia y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus*, cultivada en condiciones de laboratorio. En: XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. (Sinaloa, México). [citado en octubre de 2018]. p. 1.

⁹⁸ OCHOA, Diana y MONTTOYA, Alexandra. Consorcios microbianos: Una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. En: Revista Facultad de Ciencias Económicas de la Universidad Militar Nueva Granada. Diciembre. 2010, vol. 18, no. 2, p. 60-61.

⁹⁹ SANDOVAL, Andrés. Aislamiento y reconstrucción de consorcios microbianos que permitan la optimización de la producción de biogás a partir de fangos residuales. Trabajo de grado Microbiólogo. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, 2018. 25 p.

interactúan entre sí desarrollando múltiples actividades funcionales al interior de la comunidad y con su hospedero”¹⁰⁰.

Además Guerrero et al.,¹⁰¹, afirma que la presencia de consorcios microbianos juega un factor que estimula la estabilidad de los sistemas acuícolas y de su productividad en la acuicultura.

3.4.12 Aislamiento e identificación de cultivos bacterianos. Según Fernández et al.¹⁰², se debe elaborar y realizar un proceso de identificación que utilice de forma secuencial o simultánea un conjunto de pruebas para que de ésta manera sea posible la identificación del microorganismo a nivel de género y especie.

3.4.12.1 Aislamiento. El autor mencionado anteriormente, señala que el cultivo, cuando es viable, permite el aislamiento del microorganismo implicado, su identificación, el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos y facilita la aplicación de marcadores epidemiológicos. En el cultivo es esencial la correcta elección del medio de crecimiento y las condiciones de incubación, del mismo modo, Maldonado¹⁰³, especifica que es preciso aplicar técnicas que ayuden a desenmarañar las poblaciones mixtas y complejas de microorganismos, o cultivos mixtos, para de esta manera obtener cultivos puros de especies distintas y separadas. En el caso de las bacterias procedentes de medios naturales Madigan, citado por Salazar y Sánchez¹⁰⁴, propone que se debe realizar a través de cultivos líquidos o sólidos.

3.4.12.2 Identificación.

• **Morfología macroscópica.** Para López et al.,¹⁰⁵, se deben distinguir las principales características de las colonias como son: tamaño (en general, las bacterias Gram-positivas producen colonias algo más pequeñas que las Gram-

¹⁰⁰ CRUZ, María; ZAMUDIO, Marcela; CORONA, Alma; GONZÁLEZ, José y ROJAS, Rafael. Importancia y estudios de las comunidades microbianas en los recursos y productos pesqueros. *En: Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. Comunidades microbianas en los productos pesqueros. Agosto, 2014. vol. 2, no. 4, p. 100.

¹⁰¹ GUERRERO, M.; SOLERA, P. y ARAYA, M. Selección de cepa de microalgas para la producción de aceites como fuente de Biocombustibles y otros derivados. Proyecto de Investigación. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica, 2013. 4 p.

¹⁰² FERNANDEZ, A.; GARCIA, C.; SAÉZ, J. y VALDEZATE, S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *En: Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*. Junio, 2011. vol. 29, no. 8, p. 602.

¹⁰³ MALDONADO, Milviana. Aislamiento e identificación de cepas bacterianas de ambientes nativos y su aplicación biorremediadora en el cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Trabajo de grado de Magister en Ciencias con Énfasis en Manejo Sustentable de Recursos Bioacuáticos y de Medio Ambiente. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Naturales, 2012. 40 p.

¹⁰⁴ MADIGAN, M. Biología de los microorganismos. 10 ed. Madrid: Pearson Education/Prentice Hall, 2004. 607-612 p, Citado por, SALAZAR, Y. y SÁNCHEZ, E. Evaluación de consorcios microbianos conformados a partir de aislamientos bacterianos con capacidad degradadora de tetranitrato de pentaeritritol (PETN) y trinitrotolueno (TNT). Trabajo de grado Ingenieros ambientales y sanitarios. Bogotá: Universidad de la Salle. Facultad de ingeniería, 2011. 19 p.

¹⁰⁵ LÓPEZ, J; CASTILLO, F y SALAVERT, M. Microbiología aplicada. *En: Técnicas de identificación*. Capítulo 3. España, 2008. p. 35.

negativas), forma, grado de elevación, borde, color, superficie, densidad, consistencia y olor.

- **Características microscópicas.** Según Fernández *et al.*,¹⁰⁶ se suele recurrir a la tinción de azul de metileno o a la de Gram, esta última es la principal herramienta a la que se acude para hacer un diagnóstico provisional en el proceso de identificación de la mayoría de las bacterias, por su parte, Morante y Abasolo¹⁰⁷, manifiestan que la forma de las bacterias al microscopio está determinada por la rigidez de su pared celular. Básicamente, se diferencian según su forma en cocos (esférica u ovalada), bacilos (cilíndrica o de bastones; rectos o curvos) y espirilos (espiral).

3.4.13 Identificación de bacilos mediante pruebas bioquímicas. Benavides sostiene que “Los ensayos bioquímicos tradicionalmente utilizados, llamadas pruebas bioquímicas convencionales, generalmente determinan la actividad de una vía metabólica (conjunto de reacciones químicas) a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer transforma o no”¹⁰⁸. Del mismo modo, Gálvez *et al.*,¹⁰⁹, mencionan que para la realización de las pruebas bioquímicas se utilizan medios que están constituidos por un medio base (simple o enriquecido) adicionado de un indicador que permite observar un cambio o la generación de alguna sustancia que es característica de la fisiología de un microorganismo, para de esta manera lograr la identificación genérica de cultivos microbianos.

3.4.13.1 Oxidasa. Fernández, *et al.*¹¹⁰ indican que esta prueba determina la presencia de enzimas oxidasas. La reacción de la oxidasa es causada por la presencia de un sistema citocromo-oxidasa que activa la oxidación del citocromo el cual es reducido por el oxígeno molecular produciéndose agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. MacFaddin citado por Abasolo¹¹¹, menciona la técnica para identificar la presencia de dicha enzima: se empapan discos de papel con parafenilendiamina y se coloca en un cultivo creciendo en pacas de agar nutritivo. Si las células contienen citocromo c oxidasa, el reactivo se torna de color violeta o púrpura, si no es así, el disco se queda incoloro.

¹⁰⁶ FERNANDEZ, A.; GARCIA, C.; SAÉS, J. y VALDEZATE, S. Op. cit., p. 604.

¹⁰⁷ MORANTE, Laura y ABASOLO, Fernando. Bacterias degradadoras de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con hidrocarburos. 1 ed. Ecuador: ColloQUIUM, 2019. 21 p. ISBN: 978-9942-814-33-3.

¹⁰⁸ BENAVIDES, Heidy. Propuesta de guía de aplicación de técnicas de microbiología (Bacterias y hongos) para ser utilizado en microbiología general. Trabajo de grado Licenciada en química y farmacia. San Salvador: Universidad de El Salvador. Facultad de química y farmacia, 2007. 38 p.

¹⁰⁹ GÁLVEZ, R; GÓMEZ, O; SILVA, G; RÍOS, F y QUINTERO, D. Tratamiento con extracto de *Azadirachta indica* en aguas residuales porcinas contaminadas con *Salmonella typhi*. En: Revista Latinoamericana de Recursos Naturales. 2013. vol. 9, no. 1, p. 65.

¹¹⁰ FERNANDEZ, A.; GARCIA, C.; SAÉS, J. y VALDEZATE, S. Op. cit., p. 606.

¹¹¹ ABASOLO, Fernando. Selección y evaluación de bacterias del tracto digestivo del pectínido mano de león (*Nodipecten sunbodosus*) y de la concha de nácar (*Pteria sterna*) con uso potencial probiótico en la acuicultura de bivalvos marinos. Tesis de Doctor en ciencias. La Paz: Centro de investigaciones biológicas del Noroeste, S. C., 2015. 37 p.

3.4.13.2 Catalasa. Benavides¹¹², postula que esta prueba es usada para verificar la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo, cuya función según Llanos¹¹³, es catalizar la ruptura del agua oxigenada, liberando oxígeno al ambiente. Saravia¹¹⁴, menciona que si se observa inmediatamente la formación de burbujas es un resultado positivo a esta prueba.

3.4.13.3 Prueba de Sulfuro Indol Motilidad (SIM). Según Bailón *et al*, éste método “Determina si un organismo es móvil o inmóvil, si es capaz de liberar ácido sulfhídrico por acción enzimática de los aminoácidos que contienen azufre produciendo una reacción visible de color negro y por último la capacidad de distinguir bacterias que producen triptofanasa, convirtiendo el triptófano en indol, además que la consistencia del medio permite la observación de la movilidad de algunas bacterias”¹¹⁵.

3.4.13.4 Prueba Triple Sugar Iron (TSI). De acuerdo con Moncayo¹¹⁶, este medio es utilizado para determinar si las bacterias son capaces de fermentar los azúcares: glucosa, lactosa y/o sacarosa, esto se consigue mediante la presencia de un indicador de pH, el rojo de fenol. Si el medio es de color rojo indica que el pH es alcalino y por lo tanto no hay fermentación de azúcares. Si el color es amarillo indica que el pH es ácido y por lo tanto hay fermentación de azúcares.

3.4.13.5 Tinción de endosporas, técnica de de Schaeffer-Fulton, 1933¹¹⁷. Según Ragazzo, *et al*¹¹⁸, la técnica de Schaeffer-Fulton es utilizada para evidenciar la presencia de endosporas en las cepas aisladas, además Chumacero¹¹⁹,

¹¹² BENAVIDES, Heidy. Op. cit., p. 111.

¹¹³ LLANOS, Maritza. Bacterias solubilizadoras de fosfato del género *Bacillus* en suelos de la provincia de el Collao (Puno) y su efecto en la germinación y crecimiento de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en condiciones de invernadero. Trabajo de grado Licenciada en biología. Puno: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de ciencias biológicas, 2017. 42 p.

¹¹⁴ SARAVIA, Rocío. Evaluación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos que influyen en la mortalidad de juveniles de *Anisotremus scapularis* “Sargo” en el Centro de Acuicultura Morro Sana – Tacna. Trabajo de grado Bióloga Microbióloga. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna. Facultad de Ciencias, 2019. 37 p.

¹¹⁵ BAILÓN, Lucía; CRUZ, Roberto y CERVANTES, Armando. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de estudios superiores Zaragoza, 2003. 92 p.

¹¹⁶ MONCAYO, Antonio. Estudio microbiológico de conservas vegetales y condiciones óptimas del proceso de apertización. Trabajo de grado de Máster universitario en Tecnología e Industria Alimentaria. Sevilla: Universidad de Sevilla, 2017. 45 p.

¹¹⁷ FULTON, Mac Donald y SCHAEFFER, Alice. A simplified method of staining endospores. *En*: Science. Febrero, 1933. vol. 77, p. 194.

¹¹⁸ RAGAZZO, Juan, *et al*. Selección de cepas de *Bacillus spp.* productoras de antibióticos aisladas de frutos tropicales. *En*: Revista Chapingo. Serie horticultura. Febrero, 2011. vol. 17, p. 6.

¹¹⁹ CHUMACERO, Berenice. Diversidad genética y filogenia de bacterias pertenecientes al género *Bacillus*, tolerantes a cromo, asociadas al mezquite (*Prosopis Laevigata*). Trabajo de grado de Máster en ciencias (Microbiología). Puebla: Benemérita universidad autónoma de Puebla. Centro de investigación en ciencias microbiológicas- ICUAP, 2019. 28 p.

Menciona que es posible observar la posición de las esporas en las bacterias. Por su parte, Milián *et al*¹²⁰, indican que la producción de endosporas es una característica típica de todas las bacterias de los géneros *Bacillus*, las endosporas de este género de bacterias, estimulan el sistema inmune, contribuyen a la resistencia ante patógenos ambientales, inhiben el crecimiento microbiano de bacterias dañinas y favorecen los procesos digestivos, así mismo, Pérez *et al*¹²¹., señalan que aunque no está totalmente demostrado, se plantea que uno de los efectos de los cultivos de *Bacillus sp.* y sus endosporas radica en favorecer el incremento de la población de especies de *Lactobacillus* a nivel del tracto digestivo, con un aumento en la producción de ácido láctico y una disminución del pH intestinal, con una disminución de *Staphylococcus*, coliformes y enterobacterias.

3.4.14 Conteo de unidades formadoras de colonias. Según Camacho *et al*¹²², la técnica se basa en contar las “unidades formadoras de colonias” o UFC presentes en un gramo o mililitro de muestra. Se considera que cada colonia que se desarrolla en el medio de cultivo de elección después de un cierto tiempo de incubación a la temperatura adecuada, proviene de un microorganismo o de un agregado de ellos, de la muestra bajo estudio; esos microorganismos son capaces de formar la colonia, es decir una UFC.

3.4.15 Sistemas de recirculación acuícola (SRA). Según Domínguez, “Los SAR son sistemas de producción acuícola donde se mantiene el mismo volumen de agua en constante circulación para metabolizar los desechos a través de sistemas de filtración, lo que les da la característica de ser sistemas semicerrados, ya que no poseen interacciones significativas con el ambiente”¹²³.

Para comprender mejor, Hernández *et al*¹²⁴ señalan que un sistema de recirculación es básicamente un sistema cerrado que contiene tanques para peces, filtros y sistemas de tratamiento de agua. Los peces son distribuidos en tanques en los que el agua es recambiada continuamente para garantizar las condiciones de óptimo crecimiento. El agua que es bombeada dentro de los tanques, pasa a través de sistemas de filtración biológica y mecánica antes de ser retornada a los tanques.

¹²⁰ MILIÁN, PÉREZ y BOCOURT. Op. cit., p. 119.

¹²¹ PÉREZ, Manuel; MILIÁN, Grethel; RONDÓN, Ana; BOCOURT, Ramón y TORRES, Verena. Efecto de endosporas de *Bacillus subtilis* E-44 con actividad probiótica sobre indicadores fermentativos en órganos digestivos e inmunológicos de pollos de engorde. En: Revista Sociedad Venezolana de Microbiología. Octubre. 2015. vol. 35, no. 2, p. 92.

¹²² CAMACHO, A. *et al.* Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). En: Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos. 2 ed. México: Facultad de química, UNAM. 2009. p. 1.

¹²³ DOMINGUEZ, Omar. Los Sistemas Acuícolas de Recirculación: ¿una alternativa para el cultivo sustentable de peces ornamentales en el Estado de Morelos? En: Scielo, Sociedades Rurales, Producción Y Medio Ambiente. Mayo, 2012. vol. 12, no. 24. p. 212.

¹²⁴ HERNÁNDEZ, C; AGUIRRE, G y LÓPEZ, D. Sistemas de producción de acuicultura con recirculación de agua para la región norte, noreste y noroeste de México. En: Revista Mexicana de Agronegocios. Julio-Diciembre, 2009. vol. 25, p. 121.

En contraste con lo anterior, Timmons et al., citado por García *et al*¹²⁵, indica que los sistemas de recirculación acuícola (SRA) son procesos donde el agua utilizada en los estanques de producción se conduce a un tren de tratamiento para reacondicionar el efluente, permitiendo la vida acuática. Estos medios de tratamiento tienen cuatro funciones básicas: circulación de agua, remoción de sólidos, biofiltración e intercambio gaseoso. Es importante mencionar que según Maigual *et al*¹²⁶, se requieren menos del 10% del agua y un área mucho menor que las requeridas por otros sistemas acuícolas para producir la misma cantidad de peces.

A su vez, Martínez afirma:

Un SAR es aquel que permite, mediante una serie de tratamientos del agua de cultivo, garantizar una calidad de agua suficiente y adecuada para el mantenimiento de los organismos acuáticos en sus diferentes estadios (reproducción, larvario, pre-engorde o engorde) además de que los SRA proporcionan un medio de cultivo estable para los peces que debe ser manejado en forma integral. Estos funcionan para mantener los parámetros de calidad del agua mediante procesos como la filtración, el control de temperatura, el control del nivel de oxígeno, el nivel de amonio, el pH, la desinfección y otros¹²⁷.

¹²⁵ Timmons, M; HOLDER, J y PIEDRAHITA, R. Acuicultura en sistemas de recirculación. Ithaca, USA: LLC Edición, 2009. 959 p., Citado por, GARCÍA, Daury; GALLEGOS, Iván; DÍAZ, Carlos; FALL, Cheikh y BURROLA, Cristina. Evaluación de un sistema de recirculación y acondicionamiento de agua en truiticultura. *En*: Tecnología y Ciencias del agua. Abril-Junio, 2011. vol. 2, no. 2, p. 83.

¹²⁶ MAIGUAL, Yemali; SÁNCHEZ, Iván y MATSUMOTO, Tsunao. Desempeño de tanques decantadores de sólidos en un sistema de recirculación para producción de tilapia. *En*: Revista MVZ. Septiembre, 2013. vol. 18, no. 2, p. 3493.

¹²⁷ MARTÍNEZ, María Paz. Resultados preliminares sobre el uso de lodos de pisciculturas sobre suelos agropecuarios de origen volcánico de la Patagonia Occidental (AYSÉN). Sistemas de producción acuícola en fase terrestre: recirculación y flujo continuo. Boletín INIA, no. 223. Coyhaique: Christian Hepp K, 2012. 12 p. ISSN 0717-4829.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente es un estudio de tipo experimental y analítico, con comparaciones de los valores de peso y sobrevivencia de Tilapia Roja (*Oreochromis sp.*) aplicando cinco dietas alimenticias con diferentes tipos de probióticos.

4.1 LOCALIZACIÓN Y PERIODO DE ESTUDIO

Este estudio se realizó en los laboratorios de Sanidad Acuícola y Digestibilidad del programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño en la ciudad de San Juan de Pasto (Figura 1), que se encuentra ubicada en la región andina en el sur occidente de Colombia a 1°12'52.48" de Latitud norte y 77°16'41.22" de longitud al meridiano de Greenwich, posee una temperatura promedio de 14°C, altitud de 2.527m.s.n.m., precipitación anual de 1180 milímetros y una humedad relativa del 75%¹²⁸. La fase de campo de este estudio duró 8 meses, tiempo en el que se adecuó las instalaciones, se adquirió el material biológico, se aisló las cepas con potencial probiótico, se llevó a cabo el periodo de adaptación, la aplicación de los tratamientos alimenticios durante 60 días y la constante búsqueda de literatura y análisis.

Figura 1. Campus Universidad de Nariño, sede Torobajo, Pasto



4.2 MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS

4.2.1 Materiales.

- Laminillas portaobjetos
- Laminillas cubreobjetos
- Cristalería (Probetas 10 – 100 ml, elermeyer, beaker 300 ml, tubos de ensayo, cajas Petri)
- Papel aluminio

¹²⁸ OFICINA DE PLANEACIÓN, Universidad de Nariño. San Juan de Pasto.

- Papel vinipel
- Papel craf
- Asas de vidrio y aluminio
- Puntas para micropipeta
- Mangueras para aireación diámetro 3/16"
- Piedras difusoras
- Tijeras
- Tarros plásticos
- Tamiz
- Recipientes plásticos (23,8 L)
- Tubería (1 pulgada, 1/2 y 3/4 de pulgada)
- Codos y T (1 pulgada, 1/2 y 3/4 de pulgada)
- Cinta de enmascarar
- Cinta teflón
- Cinta métrica
- Marcador indeleble
- Llaves de paso (1/2 pulgada)
- Gradilla
- Mortero
- Tubos Ependorf (1 ml)
- Acuarios de plástico de 25 y 120 litros

4.2.2 Equipos.

- Balanza g
- Estufa
- Nevera
- Incubadora
- Cabina de flujo laminar
- Autoclave
- Espectofotometro
- Bortex Janke
- Blower
- Transfer pipeta
- Computador portátil
- Cámara fotográfica
- Microscopio
- Sonda multiparámetros
- Cámara de recuento Neubauer
- Motobombas de 85 watts

4.2.3 Insumos.

- Probiótico Comercial

- Alimento balanceado para tilapia al 45% de proteína
- Alcohol 70%
- Eugenol
- Hipoclorito de sodio comercial al 5,5%
- Juego de colorantes para tinción de Gram
- Peróxido de Hidrógeno
- Agar Mac Conkey
- Caldo Nutritivo TSB (Tripcasa-Soya-Broth)
- Caldo Nutritivo MRS (Man, Rogosa y Sharpe)
- Agar Bacteriológico
- Agar TSA (Tripcasa-Soya-Agar)
- Agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe)
- Tiras de papel con reactivo para-amino-N-dimetilanilina (Oxidasa)
- Cinta amino-N-dimetil-anilina (Catalasa)
- Agua destilada
- Cepas de referencia bacteriana (*Bacillus cereus* y *Lactobacillus casei*)

4.3 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizó un total de 640 alevinos de Tilapia Roja (*Oreochromis sp.*) con un peso inicial promedio de $0,573 \pm 0,093$ g provenientes de la empresa comercial Biofish de Nariño SAS ubicada en el municipio de Sandoná, Nariño. Los especímenes fueron empacados y transportados hasta los laboratorios con previa desinfección, en bolsas plásticas con una proporción de agua-oxígeno 1:3 tal como lo sugiere Arellano y Benítez, 2017¹²⁹; posteriormente se seleccionó los animales con características visualmente óptimas y sin enfermedades siguiendo lo descrito por Saavedra, 2006¹³⁰, quien menciona que esto es posible teniendo en cuenta el comportamiento que dichos peces presenten, como es la flacidez en su movilidad, sus movimientos giratorios, entre otros, si por el contrario, los animales se encuentran enfermos, se observa presencia de manchas, capa de mucosidad, coloración anormal o cambios en el color de la dermis y por tanto deben ser descartados para posteriores análisis.

Por su parte, se utilizaron cepas microbianas autóctonas (*Bacillus sp.* Y *Lactobacillus sp.*) aisladas a partir del tracto gastrointestinal de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) y un probiótico comercial.

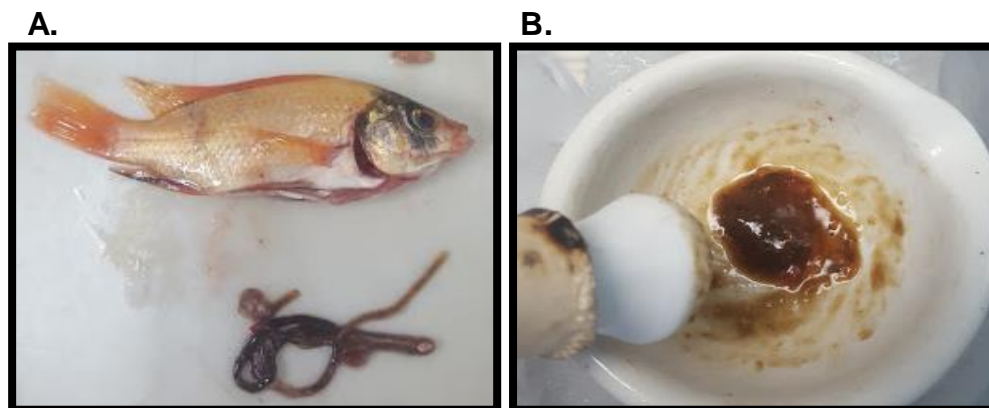
¹²⁹ ARELLANO, Eliana y BENÍTEZ, Diana. Evaluación de un consorcio microbiano (*Lactobacillus sp* y *Bacillus sp*) con potencial probiótico en la alimentación de alevinos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo condiciones de laboratorio en la Universidad de Nariño. Trabajo de grado Ingenieras en Producción Acuicola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. Departamento de Recursos Hidrobiológicos, 2017. 36 p.

¹³⁰ SAAVEDRA. Op. cit., p. 20

4.4 OBTENCIÓN DE CEPAS MICROBIANAS

Para la obtención de las cepas autóctonas, se utilizó un lote independiente al del estudio, cuyos individuos fueron fotografiados y posteriormente se sometieron a sedación profunda con Eugenol siguiendo la técnica estandarizada por Ayala¹³¹ para luego realizar el sacrificio mediante punción espinal. Se hizo un lavado superficial con agua destilada antes y después del sacrificio, con el fin de extraer los intestinos (Figura 2. A) y macerarlos en conjunto en un mortero previamente esterilizado hasta obtener una muestra homogénea como se observa en la figura 2. B, de este macerado se tomó 1 g como muestra para obtener las cepas con posible potencial probiótico y posteriormente formar el consorcio microbiano. Una vez obtenida la muestra macerada se incorporó el gramo de muestra en un tubo de ensayo con 9 ml de caldo y se homogenizó mediante el uso del Vortex, ya realizado este proceso se efectuó las diluciones seriadas siguiendo el protocolo descrito por Tortora citado por Ortega y Fuertes¹³² con el fin de reducir el número de bacterias a aislar, para ello, se agregó 1 ml de la muestra homogeneizada mecánicamente en dos tubos de ensayo que contenían 9 ml de caldo TSA y MRS respectivamente, se mezcló y se transfirió 1 ml a otros tubos rotulados con la dilución correspondiente y con 9 ml del mismo caldo, se homogenizó y de estos últimos se transfirió nuevamente 1 ml de cada uno a los siguientes tubos, así se repitió secuencialmente este proceso hasta obtener 6 diluciones de cada caldo desde 10^{-1} hasta 10^{-6} .

Figura 2. A. Extracción de intestinos de Tilapia Roja (*Oreochromis sp.*); B. Maceración de intestinos



Posteriormente, se adicionó un alícuota de 100 μ L de cada dilución sobre la superficie de cajas Petri con medio de cultivo Tripticasa Soya Agar (TSA) y Man Rogosa Sharpe (MRS) para favorecer el crecimiento de bacterias facultativas como

¹³¹ AYALA, Nahúm. Estudio comparativo de los efectos de los anestésicos metanosulfonato de tricaina (MS-222) y eugenol, para su uso en el pez cebra (*Danio rerio*) como modelo experimental. Trabajo de grado de Doctor veterinario. Córdoba: Universidad de Córdoba. Facultad de veterinaria, 2014. 39 p.

¹³² TORTORA, G; FUNKE, B y CASE, C. Introducción a la microbiología. 9 ed. Buenos Aires, 2007., Citado por ORTEGA, Lorena y FUERTES, Karina. Op. cit., p. 57.

las del género *Bacillus*, *Lactobacillus* y otras bacterias ácido lácticas, la siembra de la suspensión bacteriana, se realizó mediante la técnica de césped con ayuda de azas estériles, posteriormente se llevó a incubación a 36°C durante 24 a 72 horas para obtener colonias bacterianas en la superficie del agar y proceder a su respectiva caracterización.

La purificación de las bacterias se realizó mediante siete resiembras sucesivas adicionales en cajas Petri tomando las colonias más representativas y teniendo en cuenta su frecuencia y morfología; así, para aislar bacterias del género *Bacillus* se tuvo en cuenta lo mencionado por Calvo y Zúñiga¹³³, quienes describen que estas cepas presentan forma irregular y color crema, la apariencia de los bordes de las colonias varía entre aserrada, lobulada, digitiforme y ondulada y presentan un anillo concéntrico con borde irregular; para el caso del género *Lactobacillus* se tuvo en cuenta a Sobrino¹³⁴ que los describe como unos bastones con morfología variable, pueden ser largos, rectos, ligeramente curvados o hasta cocobacilos.

4.4.1 Identificación de bacterias *Bacillus* sp. y *Lactobacillus* sp. Para verificar que las cepas aisladas pertenecen al género *Bacillus* y *Lactobacillus*, se siguió el protocolo descrito por España¹³⁵, que consiste en realizar visualizaciones microscópicas para lo cual es necesario realizar tinción de Gram que permite determinar si los organismos son Gram positivos o Gram negativos así como también la pureza de las cepas, posteriormente, se realizó pruebas bioquímicas para la clasificación bacteriológica comparando los resultados con la literatura con el fin de escoger aquellas que se ajustan a las características reportadas por los autores, en este caso se tuvo en cuenta lo mencionado por Lara y Burgos¹³⁶ quienes afirman que para el caso del género *Bacillus* se debe seleccionar las cepas que presenten las pruebas catalasa y oxidasa positivas, bacilos Gram positivos endosporados, mientras que para el caso del género *Lactobacillus*, se debe seleccionar aquellas cepas que presenten catalasa y oxidasa negativas, y que sean Gram positivas dispuestas en cadena. Los procesos realizados fueron contrastados con cepas de referencia como *Lactobacillus casei* y *Bacillus cereus*; para ello, se realizó la reconstitución o activación de dichas cepas de acuerdo a las instrucciones de fábrica en un medio específico con el fin de optimizar su crecimiento y recuperación, las cuales consistieron en extraer una colonia del medio sólido (MRS y TSA respectivamente), posteriormente se la agregó al medio líquido correspondiente, siendo esta la muestra madre, transcurridas 24 horas, se confirmó

¹³³ CALVO, Pamela y ZÚÑIGA, Doris. Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus spp.* aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). En: Revista de Ecología aplicada. Abril, 2010. vol. 9, no. 1, p. 33.

¹³⁴ SOBRINO, Julián. Caracterización parcial, bioquímica e inmunológica, de una sustancia antimicrobiana producida por *Lactobacillus sake* 148. Trabajo de grado de Doctor en Veterinaria. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria, 1993. 23 p.

¹³⁵ ESPAÑA, A. Guía de Laboratorios de Microbiología. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Disponible en internet: <<https://es.scribd.com/doc/176432601/Practicas-de-Laboratorio-Microbiologia-Alex>>

¹³⁶ LARA, Cecilia y BURGOS Ángela. Potencial probiótico de cepas nativas para uso como aditivos en la alimentación avícola. En: Revista Colombiana de biotecnología. Julio, 2012. vol. 14, no. 1, p. 32.

la activación de éstas por su evidente crecimiento y se sembró con asa de argolla por el método de estriado en cajas Petri con agar MRS y TSA respectivamente, finalmente se incubó durante un lapso de 24 a 48 horas a una temperatura de 35°C a 37°C con el fin de facilitar su manejo para el posterior estudio. Luego, las cepas obtenidas se sometieron a tinción de Gram, para constatar visualmente en microscopio si eran morfológicamente compatibles con las cepas aisladas del intestino de las Tilapias y, por último, se realizó las pruebas bioquímicas descritas a continuación, teniendo en cuenta los mismos criterios de verificación.

1) En la prueba Mac Conkey, utilizada para aislar selectivamente bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, se realizó la siembra de las presuntas bacterias *Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.* sobre medio de cultivo sólido mediante la técnica de sembrado por agotamiento.

2) Para la prueba de catalasa, que permite determinar si las bacterias son aerobias o anaerobias facultativas, se tomó una colonia aislada del cultivo en un portaobjetos, se añadió una gota de peróxido de hidrogeno, el cual se descompone en agua y oxígeno y mediante la inmediata formación de burbujas procedentes del oxígeno se determina que el resultado es positivo.

3) Para la prueba de oxidasa se utilizó tiras de papel con reactivo para-amino-N-dimetilanilina, en ellas se depositó un inóculo de las bacterias en estudio y se determinó mediante parámetros de coloración la positividad de la reacción, de este modo, si la zona impregnada se tornaba de color azul-violeta resultaría una prueba positiva y si se tornaba de color amarillo la prueba resultaría negativa.

4) Para la prueba de endospora o también conocida como tinción de Schaeffer y Fulton, se tomó una cantidad del cultivo bacteriano del medio sólido en un portaobjetos, se añadió verde de malaquita durante un minuto y se esperó a que este líquido genere vapores en contacto con el calor del mechero, pasado ese tiempo se lavó con abundante agua y se añadió safranina por 3 segundos, se enjuagó y se dejó secar para proceder a observar la presencia o ausencia de esporas bajo microscopio a 40X y 100X.

5). Referente a la prueba de Sulfuro Indol Motilidad (SIM), se realizó bajo tres parámetros: en primer lugar la motilidad se determinó sembrando una colonia aislada con un asa recta en el centro de un tubo con Agar SIM a una profundidad de 2/3 desde la superficie, la siembra se realizó en línea recta y se incubó durante 24 horas a 36°C para proceder a hacer lectura visual, en segundo lugar, para el caso del sulfuro, se determinó su positividad por el ennegrecimiento del medio, y por último, para el indol, a la prueba realizada anteriormente se adicionó una gota de reactivo de Kovac, con el que el indol producido reacciona generando un anillo color rojo en la superficie, determinando así que la prueba es positiva.

6). Por último, para la prueba Triple Sugar Iron (TSI), se realizó la inoculación del medio con ayuda de un asa recta haciendo punción central hasta el fondo con estría en la superficie, se llevó a incubación durante 24 horas a 37°C y se efectuó la lectura, denominando las letras A y K como amarillo y rojo, respectivamente.

Finalmente, la conservación de las cepas autóctonas se realizó en tubos eppendorf con 50% de glicerol (0.5 ml de glicerol y 0.5 ml de caldo nutritivo MRS o TSA con bacterias) a -20°C y como cultivos de trabajo constante, tubos de ensayo con caldo MRS y TSA a -20°C, los cuales se reactivaban cada 3 días para realizar posteriores procesos.

4.4.2 Conteo de bacterias y cinética de crecimiento de *Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.* Se activó las bacterias con el fin de determinar la cinética de crecimiento y número de bacterias, esto se realizó mediante la técnica de espectrofotometría con espectrofotómetro marca Spectronic instrumets 20D+, basada en la absorbancia de luz a una longitud de onda de 600 nm y usando caldo MRS o TSA como blanco como lo plantean Castañeda y Sánchez¹³⁷, esto permitió determinar la curva y los tiempos de las fases exponencial, estacionaria y declive o muerte. Igualmente, se contó las unidades formadoras de colonias o UFC presentes en 1 ml de muestra, mediante Cámara Neubauer, considerando que cada colonia proviene de un microorganismo capaz de formar la colonia y teniendo en cuenta las formulas a aplicar, dicho conteo se realizó toda vez que fue necesario preparar el alimento con su respectivo tratamiento.

4.5 PREPARACIÓN DEL ALIMENTO COMO DIETA EXPERIMENTAL

En la preparación de los tratamientos se utilizó como base alimento balanceado comercial para tilapia con un contenido de 45% de proteína que previamente fue tamizado por un tamiz. Con el fin de verificar la permanencia y sobrevivencia de las bacterias y en especial del número de UFC deseadas en el alimento (2×10^4 UFC/gr), primero se realizó el conteo de las mismas, mediante el protocolo sugerido por Camacho *et al*¹³⁸ para ello se utilizó los cultivos de trabajo, de los cuales se transfirió cierta cantidad de caldo nutritivo TSA o MRS que contenía las bacterias aisladas en fase exponencial en 10 g de alimento balanceado y se dejó reposar durante tres días; pasado ese tiempo, se maceró 1 g de dicho alimento concentrado y se adicionó en un tubo de ensayo con 10 ml de caldo nutritivo TSA o MRS según correspondía, estos tubos representaron las muestras madre de las que se realizó diluciones seriadas hasta obtener la dilución 10^{-4} . Finalmente, se realizó la siembra de cada dilución en cajas Petri con el fin de establecer la cantidad de colonias obtenidas y corroborar el número de UFC ideales.

¹³⁷ CASTAÑEDA, Estefanía y SÁNCHEZ, Ligia. Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género *Bacillus sp.*, primer paso para entender su efecto biocontrolador sobre *Fusarium sp.* En: NOVA. Diciembre, 2016. vol. 14, no. 26, p. 53-58.

¹³⁸ CAMACHO, A. *et al.* Op. cit., p. 4.

Una vez verificada la sobrevivencia de las bacterias contenidas en el alimento, se precedió a realizar la preparación de las dietas experimentales cada tres días, para ello, en primer lugar, se estableció el gramaje de comida requerido para los tres días y para cada tratamiento mediante el cálculo de la biomasa de cada acuario (semanalmente), multiplicado por el porcentaje de alimentación establecido (10%).

Después de calcular el gramaje anterior, se procedió a incorporar tanto las bacterias autóctonas como las comerciales con presunta actividad probiótica, para ello, previamente se activó las bacterias con varias horas de anterioridad (las necesarias para poder incorporar dichas bacterias al alimento en su fase exponencial) y una vez activadas, se realizó el conteo de las bacterias contenidas en 1 ml de caldo mediante cámara de Neubauer, para de esta manera verificar que la cantidad de bacterias a incorporar fuera la precisa, este resultado se dividió entre 2×10^4 UFC con el fin de conocer los microlitros a agregar a 1 g de alimento, esta cantidad varió en función de los gramos de alimento y del tipo de tratamiento a preparar. Ya conocidos los microlitros a adicionar, se procedió a preparar cada tratamiento, los cuales contenían una mezcla de dextrosa (1 ml por cada gramo de alimento) y almidón (0.5 g por cada 10 g de alimento) que se sometió a fuego lento hasta obtener un líquido gelatinoso, se dejó enfriar y se adicionó la cantidad calculada del caldo con bacterias y de alimento concentrado, toda la mezcla se la dispuso en bandejas previamente rotuladas, se secó en el horno a 36°C durante 24 a 30 horas y posteriormente fue molido con la ayuda de un mortero hasta obtener el tamaño de partícula deseado para almacenarlo en frascos rotulados.

4.6 DESCRIPCIÓN DE INSTALACIONES

Se dispuso de dos Sistemas de Recirculación Acuícola (SRA) como se observa en la figura 3, cada uno con 12 recipientes plásticos de 25 litros que funcionaron como acuarios, de los cuales se eligió 20 acuarios al azar; los sistemas contaban con tubería en PVC de 1/2 pulgada para la entrada de agua y de 3/4 de pulgada que conectaban hacia los biofiltros que tenían una capacidad de 120 litros y que contenían guata y cadnes. La recirculación del agua se realizó mediante dos motobombas de 85 Watts de potencia (una por cada sistema), el sistema de aireación requirió de un blower que distribuyó el aire por medio de una manguera plástica y para mantener la temperatura ideal de la especie se utilizó 6 termostatos para cada sistema. Durante 8 días, antes de sembrar los peces, se hizo seguimiento del sistema para garantizar su correcto funcionamiento.

Figura 3. Sistemas de Recirculación Acuícola (SRA)



4.7 PLAN DE MANEJO

Se utilizó 640 individuos del total de los peces seleccionados como óptimos, estos fueron sometidos a un tratamiento profiláctico con sal marina a razón de 10 g/L y permanganato de potasio 0.006 g/L y fueron distribuidos aleatoriamente en los 20 acuarios de manera homogénea teniendo en cuenta las densidades de siembra que se determinó para cada unidad experimental (32 individuos por acuario); esos 20 acuarios fueron divididos en cinco grupos que correspondieron a los cinco tratamientos aplicados o dietas experimentales, cada tratamiento con 4 réplicas.

Antes de aplicar dichos tratamientos, los animales fueron sometidos a un periodo de adaptación al alimento balanceado durante 15 días, posteriormente se los alimentó con cada tratamiento seis veces al día cada dos horas desde las 8 de la mañana hasta las 6 de la tarde realizando una distribución uniforme para asegurar su consumo.

El muestreo de los animales se realizó semanalmente durante 2 meses utilizando nasas de pescar para extraer 10 alevinos al azar por tratamiento, se tomó datos de peso y se registró la mortalidad, para ello los individuos se secaron con una franela para disminuir errores en el pesaje y después fueron puestos en un recipiente para ser regresados a sus respectivos acuarios.

Además, se monitoreó diariamente, Temperatura, Oxígeno disuelto y Potencial de Hidrógeno (pH), tomándolos únicamente en las réplicas 1 de cada tratamiento, ya que éstas estaban dispuestas de manera aleatoria en los dos sistemas de recirculación acuícola, por tanto, dichos parámetros en los demás acuarios eran similares. Para el caso de Nitritos, Nitratos y Amonio, las muestras fueron tomadas semanalmente del tanque donde se encontraba la motobomba de cada sistema de recirculación, cabe resaltar, que éstos podían variar ya que uno de ellos solo contenía un filtro y no contaba con un controlador de nivel de agua (Sistema 1), por

el contrario, el otro sistema (Sistema 2), disponía de un flotador el cual ayudaba a controlar el nivel del agua y dos filtros. Según el comportamiento de éstos parámetros, se realizó recambios de agua semanalmente para controlar aumentos de pH y sólidos suspendidos que afecten la calidad de la misma. Para controlar cantidades altas de sólidos suspendidos se realizó un sifoneo diario para eliminar desechos de heces y de alimento no consumido en cada unidad experimental.

4.8 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la presente investigación se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA) con submuestreo, en el que se aplicó cinco tratamientos, cada uno con cuatro réplicas por tratamiento, para un total de 20 unidades experimentales: cada unidad experimental estuvo conformada por 32 animales de Tilapia roja (*Oreochromis sp.*), el modelo matemático que representa a este diseño, es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{j(i)} + \eta_{k(ij)}$$

Donde;

Y_{ij} = Variable respuesta

μ = Media general del experimento

τ_i = Efecto del j-ésimo tratamiento

$\varepsilon_{j(i)}$ = Error experimental asociado a la j-ésima unidad experimental que recibe el i-ésimo tratamiento

$\eta_{k(ij)}$ = Error de muestreo asociado a la k-ésima muestra.

Los datos recolectados fueron sometidos a pruebas de Normalidad (Chi-Cuadrado, Shapiro-Wilk, Z para sesgo), Homogeneidad de Varianzas (Bartlett) e Independencia (Durbin-Watson), una vez realizada la verificación de los supuestos estadísticos fue necesario realizar la transformación de los datos de la variable peso mediante el modelo de Tasa de crecimiento simple con el objetivo de cortar la autocorrelación entre los datos recolectados y linealizar el modelo; finalmente se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) teniendo en cuenta un nivel de significancia $\alpha = 0,05$. Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico Statgraphics Centurion. En los resultados se presentan las medias de cada tratamiento para cada variable estudiada \pm Desviación estándar (DE).

En el caso de la variable Supervivencia, se aplicó la prueba de Bran-Snedecor, la cual tiene Chi-cuadrado como estadístico de prueba, para comparar las proporciones de la variable binomial. La estimación del estadístico de prueba se realiza mediante el siguiente modelo:

$$\chi_c^2 = \frac{[\sum a_i \cdot p_i] - [p \cdot \sum a_i]}{pq}$$

Donde;

χ_c^2 = Chi-cuadrada calculada

a_i = Número de éxitos

p_i = Probabilidad de éxitos

p = Probabilidad de éxitos cuando a_i tiende al infinito

q = Probabilidad de fracasos cuando a_i tiende al infinito ($1 - p$)

4.8.1 Tratamientos. Se evaluó cinco tratamientos con cuatro réplicas por tratamiento, distribuidos de la siguiente manera:

Tabla 1. Tratamientos experimentales relacionados con la distribución del alimento más probiótico en los tratamientos

Tratamiento 0	Alimento sin probiótico
Tratamiento 1	Alimento con probiótico comercial
Tratamiento 2	Alimento + aislado de <i>Bacillus sp.</i> 200000 UFC
Tratamiento 3	Alimento + aislado de <i>Lactobacillus sp.</i> 200000 UFC
Tratamiento 4	Alimento + <i>Lactobacillus sp.</i> + <i>Bacillus sp.</i> con 200000 UFC

La concentración de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.* fue de un mínimo de 200.000 por ml.

4.8.2 Formulación de hipótesis.

Hipótesis nula (Ho). No existen diferencias significativas en el efecto medio de los tratamientos sobre las diferentes variables.

$$Ho : \tau_i = \tau_j; i \neq j; i, j = 0, 1, 2, 3$$

Hipótesis alterna (H1). Al menos uno de los tratamientos tiene un efecto medio sobre las variables en evaluación.

$$Ho : \tau_i \neq \tau_j; i \neq j; i, j = 0, 1, 2, 3$$

Las variables a evaluar fueron:

Incremento de peso semanal (IPS): que permite registrar en gramos (g) la ganancia de peso de la población con relación a la semana inmediatamente anterior mediante la siguiente fórmula:

$$IPS = FP - IP$$

Modelo de Tasa de crecimiento simple (TCS): puede determinar la ganancia de peso diaria promedio expresada como porcentaje; se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$TCS = \frac{\ln(Pf) - \ln(Pi)}{t}$$

Dónde: TCS= Tasa de crecimiento simple; Pf= Peso final de los alevinos (g); Pi= Peso inicial de los alevinos (g); T= Periodo de tiempo en días.

Porcentaje de Supervivencia (%S): mediante el cual se calculó en porcentaje el número de individuos vivos en un periodo de tiempo con la siguiente formula:

$$\%S = \frac{NF}{NI} * 100$$

Dónde: %S= porcentaje de supervivencia; NF= Número de individuos sobrevivientes al final del periodo de estudio; NI= Número inicial de individuos en el periodo de estudio.

Conversión Alimenticia Aparente. Se calcula aplicando la fórmula descrita por Castell y Tiews¹³⁹. Según Águila¹⁴⁰, este parámetro permite determinar la efectividad de los alimentos suministrados.

$$CAA = \frac{\text{Cantidad de alimento consumido}}{\text{Incremento de la biomasa}}$$

Relación beneficio/costo (RBC): que permitió determinar si la producción era aceptable o no desde el punto de vista técnico utilizando un indicador que expresa el nivel de rentabilidad, donde B/C > 1 es aconsejable, B/C = 1 es indiferente y B/C < 1 no es aconsejable.

¹³⁹ CASTELL JD y TIEWS K. Report of the European Inland Fisheries Advisory Commission EIFAC, International Union of Nutritional Sciences-IUNS and International Lake Exploration Society-ICES Working group on the standardization of methodology in fish nutrition research. Hamburg, Alemania, 1980.

¹⁴⁰ ÁGUILA, Magdalena y RUIZ, Alan. Efecto de una dieta basada en insumos vegetales en el crecimiento de juveniles de *Colossoma macropomum* en crianza, Yurimaguas - Loreto, 2015. Trabajo de grado biólogos acuicultores. Yurimaguas: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Facultad de ciencias biológicas, 2016. 27 p. Disponible en internet: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4449/Magdalena_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA DE CEPAS AISLADAS CON POSIBLE POTENCIAL PROBIÓTICO

La cepa número 1 corresponde al género *Bacillus* sp., (Figura 4), en esta se encontraron colonias grandes con tinción de Gram positiva, en forma circular, borde encorvado, elevación plana y un comportamiento con la luz opaca, y en las particularidades microscópicas, bacilos alargados.

La cepa número 2 (Figura 5) pertenece también al género *Bacillus* sp., en las características macroscópicas se destacan colonias pequeñas puntiformes con borde liso, elevación plana y opaca, en su característica microscópica se encuentra que son bacilos pequeños.

A continuación, se indica la evidencia fotográfica obtenida mediante visualizaciones microscópicas realizadas durante el periodo de estudio.

Figura 4. *Bacillus* sp. (Cepa 1)

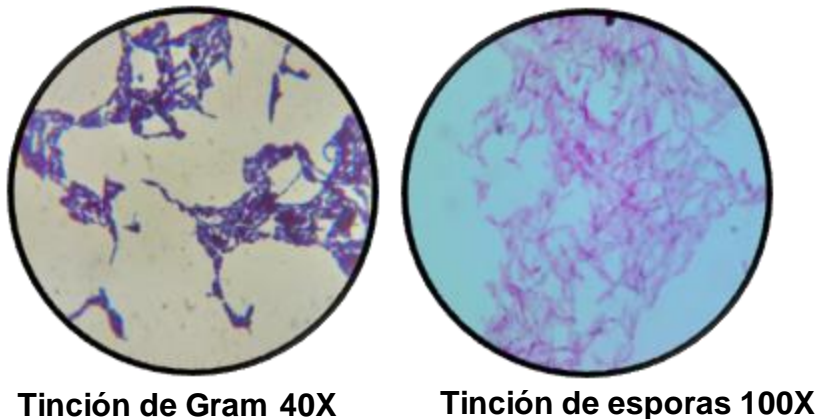
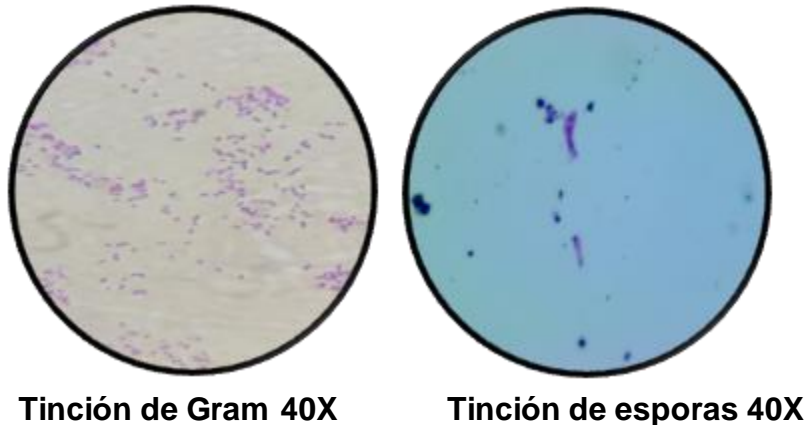


Figura 5. *Bacillus* sp. (Cepa 2)



Las cepas seleccionadas para la identificación de *Lactobacillus* sp. (Cepas 3 y 4) (Figuras 6 y 7) presentaron características macroscópicas propias del género, es decir, para el caso de la cepa 3, se observan colonias pequeñas, opacas y circulares con borde liso, para el caso de la cepa 4 se encontraron colonias irregulares con alta elevación.

Figura 6. *Lactobacillus* sp. (Cepa 3)

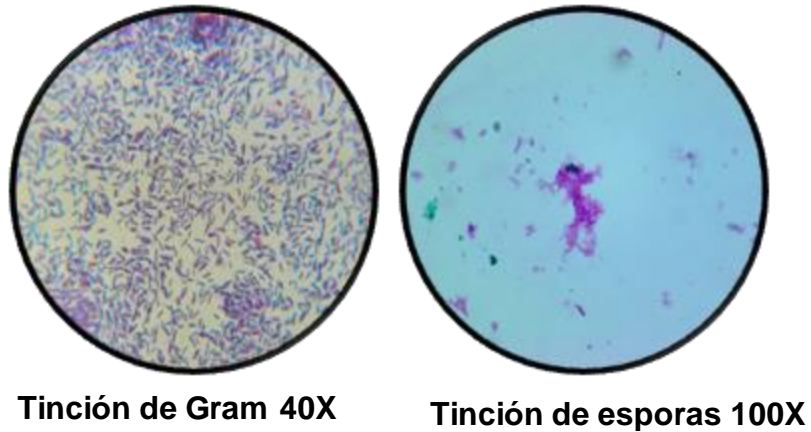
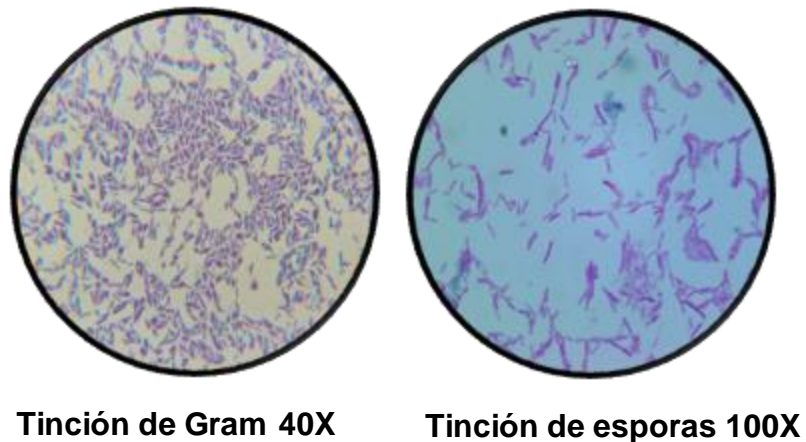


Figura 7. *Lactobacillus* sp. (Cepa 4)



Para tener certeza de que las cepas aisladas eran *Bacillus* sp. y *Lactobacillus* sp., se realizaron comparaciones morfológicas y bioquímicas con cepas de referencia *Bacillus cereus* y *Lactobacillus casei*, tomadas del cepario de la Universidad de Nariño y Universidad Mariana respectivamente, dando resultados similares a las bacterias obtenidas en el presente estudio.

5.2 PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE LAS CEPAS CON POSIBLE POTENCIAL PROBIÓTICO

Tabla 2. Resultados pruebas bioquímicas de cepas aisladas y cepas de referencia

Prueba Bioquímica	TSA			MRS		
	Cepa 1	Cepa 2	<i>Bacillus cereus</i>	Cepa 3	Cepa 4	<i>Lactobacillus casei</i>
Tinción de Gram	+	+	+	+	+	+
Tinción de endospora	+	+	+	-	-	-
Catalasa	+D	+D	+D	-	-	-
Oxidasa	-	-	-	-	-	-
SIM	Sulfuro	-	-	-	-	-
	Indol	-	-	-	-	-
	Motilidad	+	+	-	-	-
TSI	A/A	A/A	A/K	A/A	K/K	K/K
Mac Conkey	-	-	-	-	-	-

* +D: Positivo deficiente.

Las pruebas bioquímicas realizadas son respaldadas por Ochoa y Olmos¹⁴¹, donde mencionan que la caracterización morfológica y las pruebas bioquímicas realizadas son suficientes para afirmar que es un *Bacillus* sp. Los resultados obtenidos para el caso de los *Lactobacillus*, son amparados por Moreno¹⁴² y Rodríguez *et al*¹⁴³, donde se verifica que coinciden con la descripción reportadas en sus investigaciones.

5.3 UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC) OBTENIDAS EN CADA DILUCIÓN Y CINÉTICA DE CRECIMIENTO

En la Tabla 3 se indican los resultados de las diluciones seriadas 24 horas después de la siembra de los inóculos con el fin de determinar la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC).

¹⁴¹ OCHOA, Leonel y OLMOS, Jorge. The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. En: Revista Food microbiology. Octubre, 2006. vol. 23, no. 6, p. 519-525.

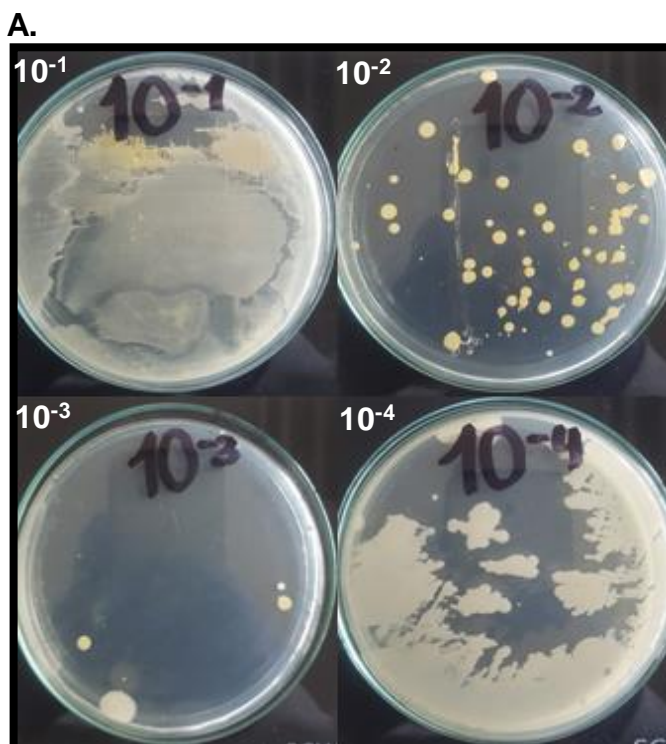
¹⁴² MORENO, Lizeth. Aislamiento y Selección de *Lactobacillus* sp. con potencial probiótico a partir de pan de abejas. Trabajo de grado de Magister en Ciencias-Microbiología. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, 2012. 17 p.

¹⁴³ RODRIGUEZ, Icela; SALAZAR, Marco y VILLALOBOS, Eduard. *Lactobacillus* spp. del tracto intestinal de *Gallus gallus* con potencial probiótico. En: Revista científica de la Facultad de Ciencias Biológicas – REBIOL. Diciembre, 2012. vol. 32, no. 2, p. 67

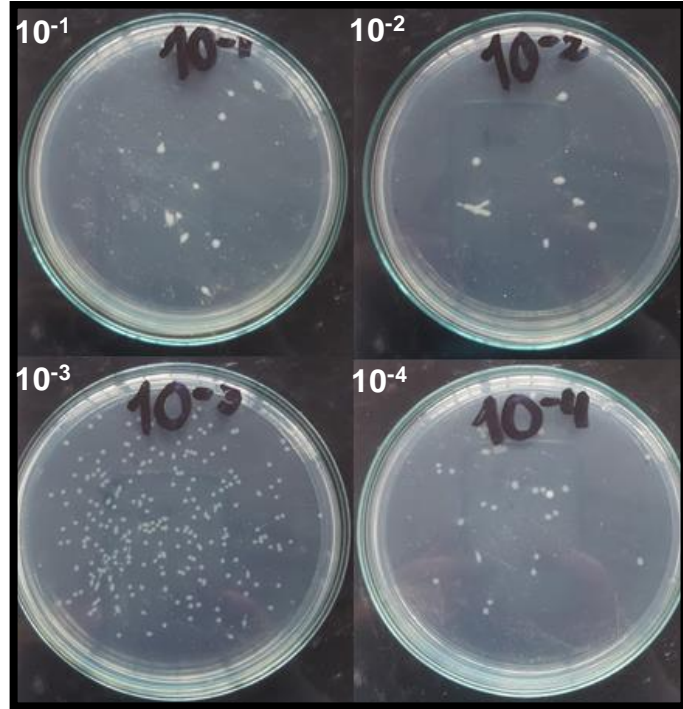
Tabla 3. Unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas en cada dilución

Dilución	<i>Bacillus sp.</i>		<i>Lactobacillus sp.</i>	
	Cepa 1	Cepa 2	Cepa 3	Cepa 4
10^{-1}	>300	>300	>300	200
10^{-2}	102	200	>300	<30
10^{-3}	<30	220	236	0
10^{-4}	>300	<30	<30	0

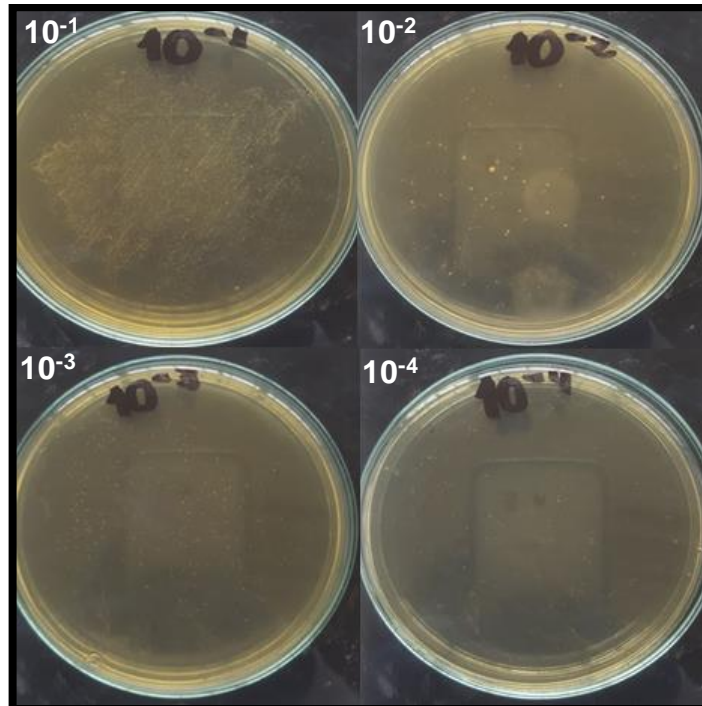
Figura 8. Lectura de Unidades Formadoras de Colonias. A. *Bacillus sp.* cepa 1. B. *Bacillus sp.* cepa 2. C. *Lactobacillus sp.* cepa 3. D. *Lactobacillus sp.* cepa 4.



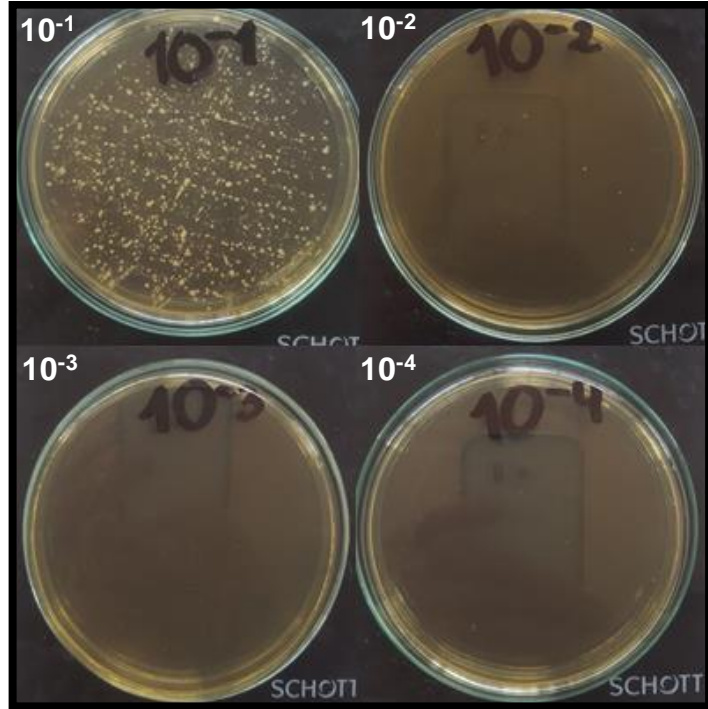
B.



C.



D.



Los resultados de la cinética del crecimiento bacteriano se indica en las Figuras 9 y 10, donde se observa la fase de adaptación, fase exponencial y estacionaria de las cepas *Bacillus* sp. y *Lactobacillus* sp. respectivamente.

Figura 9. Cinética de crecimiento bacteriano *Bacillus* sp. cepa 1 y 2

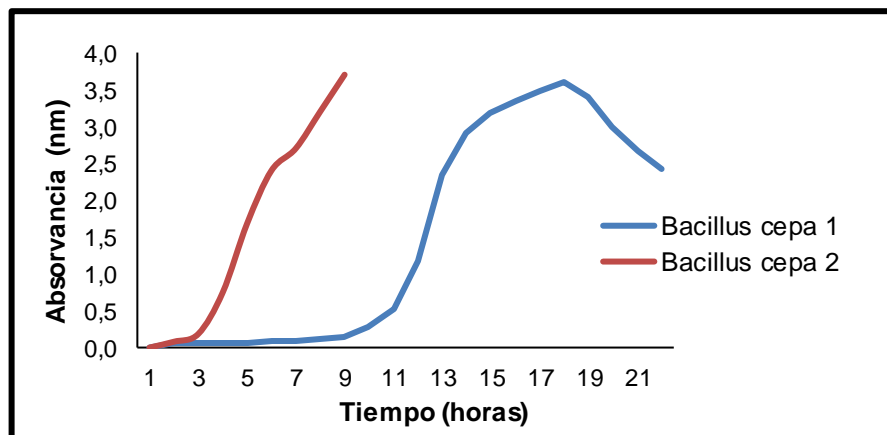
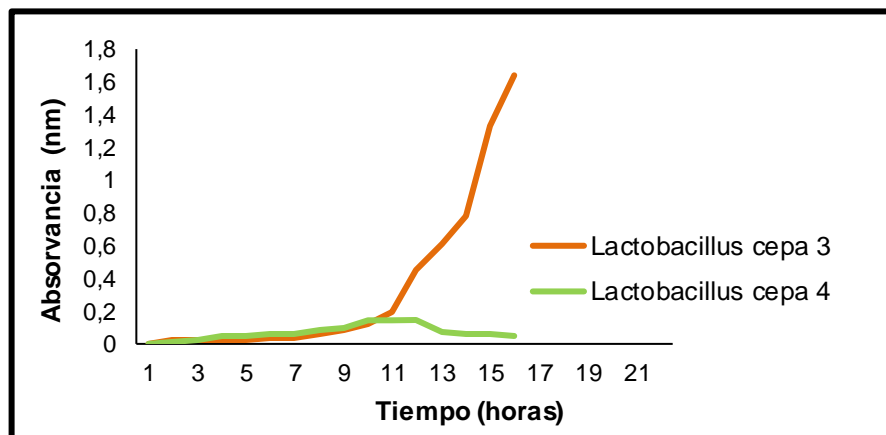


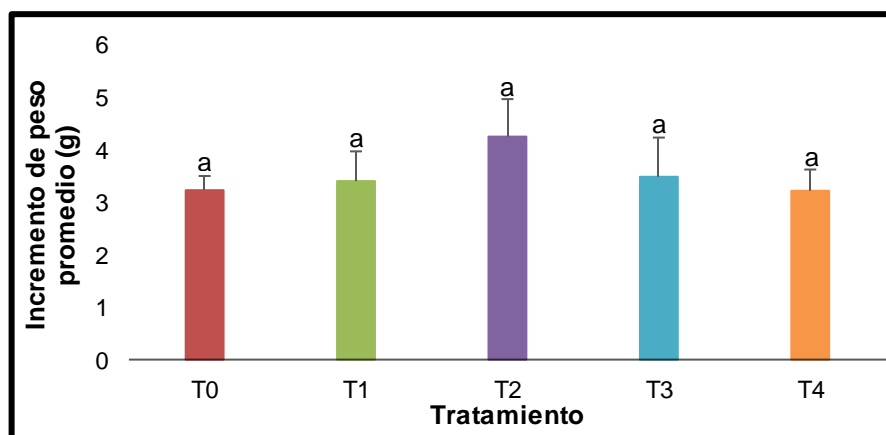
Figura 10. Cinética de crecimiento bacteriano *Lactobacillus sp.* cepa 3 y 4



5.4 INCREMENTO DE PESO

Los pesos iniciales promedio de cada tratamiento fueron de $T_0 = 0,615 \pm 0,03$ g; $T_1 = 0,56 \pm 0,09$ g; $T_2 = 0,605 \pm 0,09$ g; $T_3 = 0,551 \pm 0,09$ g y $T_4 = 0,536 \pm 0,11$ g (Anexo A) donde no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos al inicio del estudio con 95% de confiabilidad ($p > 0,05$) (Anexo B). En la Figura 11, se observa el incremento de peso promedio de cada uno de los tratamientos, dando como resultado $T_0 = 3,22 \pm 0,26$ g; $T_1 = 3,39 \pm 0,56$ g; $T_2 = 4,24 \pm 0,71$ g; $T_3 = 3,47 \pm 0,74$ g y $T_4 = 3,20 \pm 0,40$ g (Anexo E). Mediante el análisis de varianza ANOVA por la transformación de datos con el modelo de Tasa de crecimiento simple (Anexo F) se pudo determinar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos con 95% de confiabilidad ($p > 0,05$) (Anexo G).

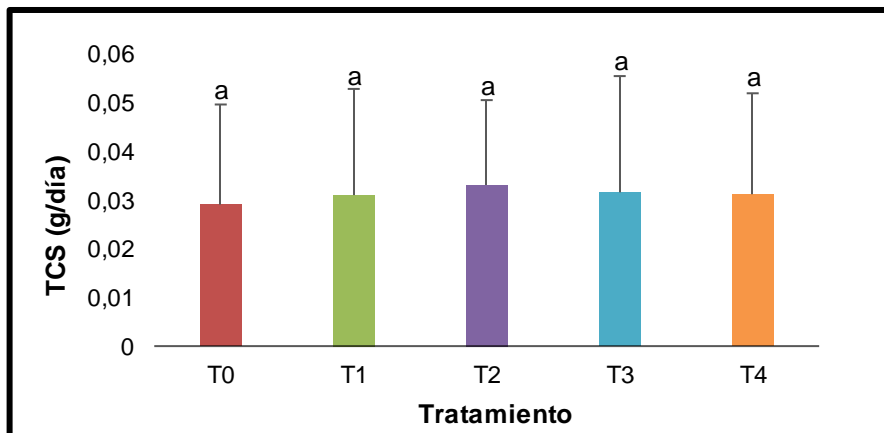
Figura 11. Incremento de peso promedio por tratamiento (g)



Los datos expresan la media de Incremento de peso (g) \pm DE. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos.

5.4.1 Tasa de crecimiento simple de peso. En la Figura 12, se observa una tasa de crecimiento simple de $T_0 = 2,9 \pm 0,02\%$ diarios; $T_1 = 3,0 \pm 0,021\%$ diarios; $T_2 = 3,3 \pm 0,017\%$ diarios; $T_3 = 3,1 \pm 0,023\%$ diarios; $T_4 = 3,1 \pm 0,020\%$ diarios (Anexo H). Mediante el análisis de varianza ANOVA se pudo determinar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos con 95% de confiabilidad ($p > 0,05$) (Anexo G).

Figura 12. Tasa de crecimiento simple para peso



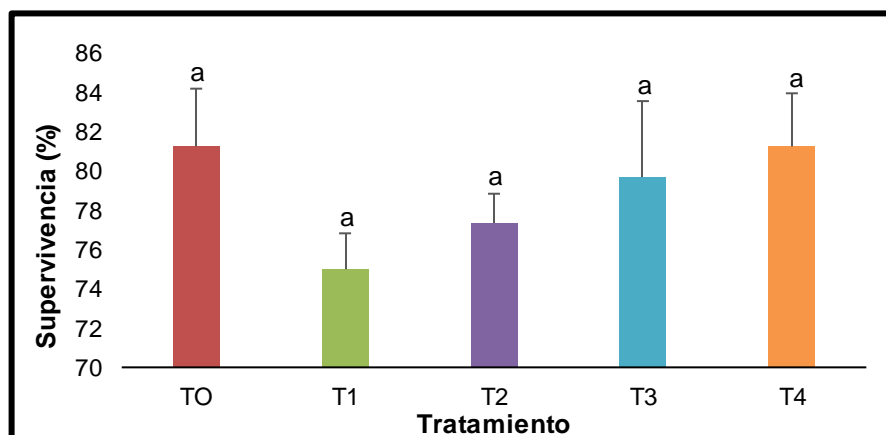
Los datos expresan la media de Tasa de crecimiento simple (g/día) \pm DE. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos.

5.5 SUPERVIVENCIA

Tal como se puede observar en la Figura 13, el porcentaje de supervivencia para cada uno de los tratamientos fue de $T_0 = 81,25 \pm 2,94\%$; $T_1 = 75 \pm 1,83\%$; $T_2 = 77,34 \pm 1,50\%$; $T_3 = 79,69 \pm 3,87\%$ y para $T_4 = 81,25 \pm 2,71\%$; siendo en promedio de supervivencia del 78,91% (Anexo I).

De acuerdo con la prueba de Brand-Snedecor, no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) en el efecto de los tratamientos sobre la supervivencia (Anexo J).

Figura 13. Supervivencia en los tratamientos

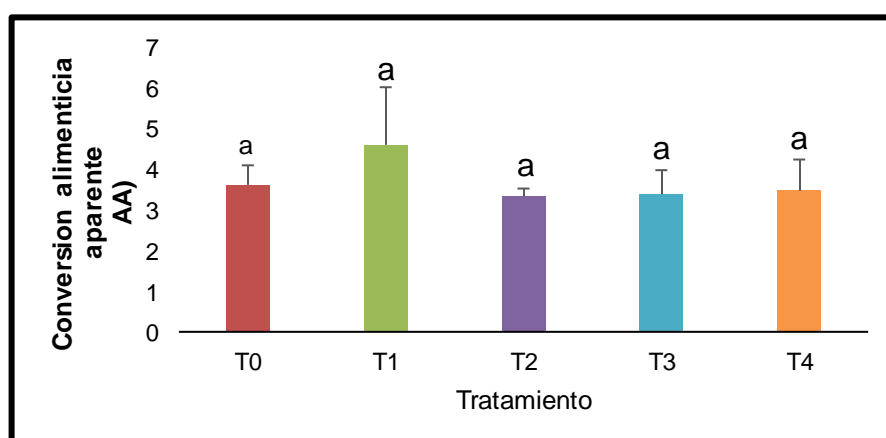


Los datos expresan la supervivencia (%) \pm DE. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos.

5.6 CONVERSIÓN ALIMENTICIA APARENTE (CAA)

Se obtuvo una conversión alimenticia total para cada tratamiento de $T_0 = 3,55$ con una media de $3,60 \pm 0,48$; $T_1 = 4,45$ con una media de $4,58 \pm 1,42$; $T_2 = 3,30$ con una media de $3,32 \pm 0,19$; $T_3 = 3,32$ con una media de $3,38 \pm 0,59$ y $T_4 = 3,44$ con una media $3,46 \pm 0,77$ (Figura 14) (Anexos L, M). Por medio de la prueba estadística de Kruskal-Wallis se logró determinar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos con un 95% de confiabilidad entre los tratamientos ($p>0,05$) (Anexo N).

Figura 14. Conversión alimenticia aparente (CAA)

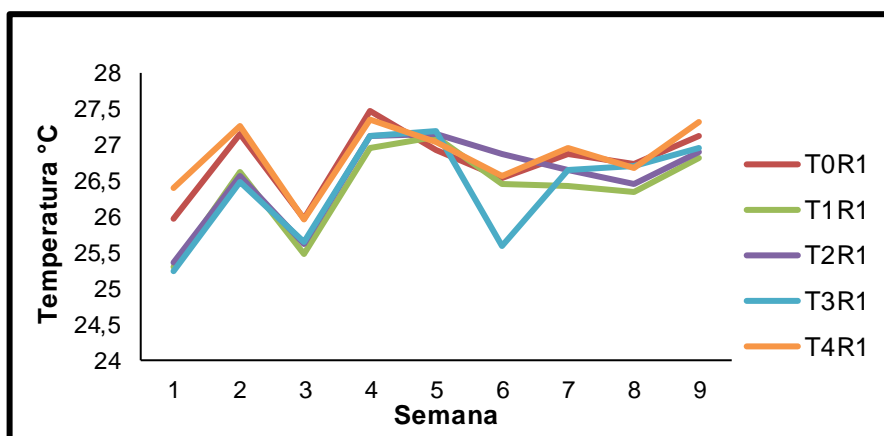


Los datos expresan la media de Conversión Alimenticia Aparente \pm DE. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos.

5.7 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DEL AGUA

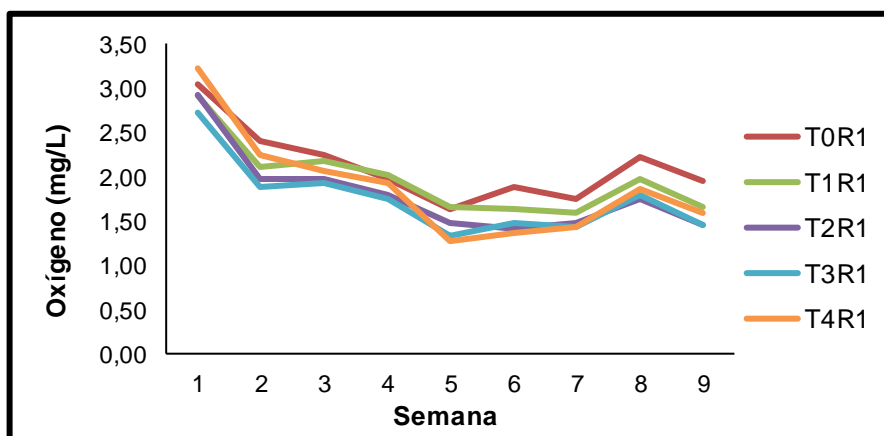
5.7.1 Temperatura. Durante la investigación la temperatura de las réplicas 1 para cada uno de los tratamientos tuvo un valor promedio de 26.8°C para el T₀, 26.4°C para el T₁, 26.5°C para el T₂, 26.4°C para el T₃ y 26.8°C para el T₄ (Anexo O).

Figura 15. Comportamiento semanal de temperatura



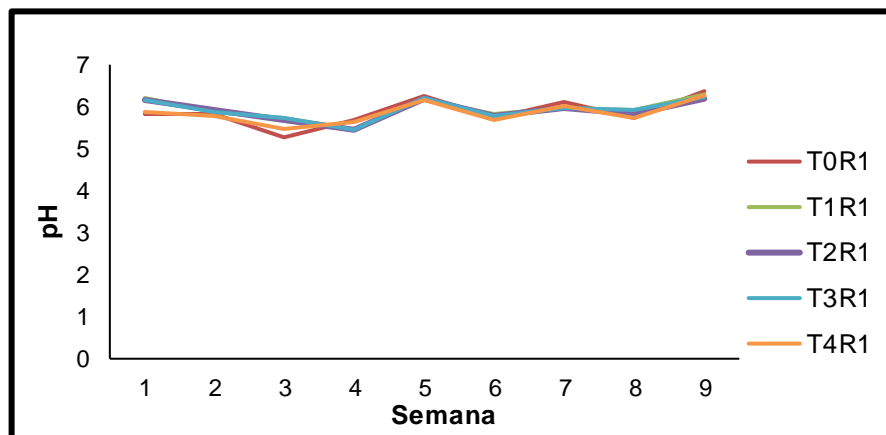
5.7.2 Oxígeno disuelto. El oxígeno de las réplicas 1 durante el periodo de estudio tuvo un promedio de 2.12 mg/L para el T₀, 1.97 mg/L para el T₁, 1.8 mg/L para el T₂, 1.75 mg/L para el T₃ y 1.89 mg/L para el T₄ (Anexo P).

Figura 16. Comportamiento semanal de oxígeno



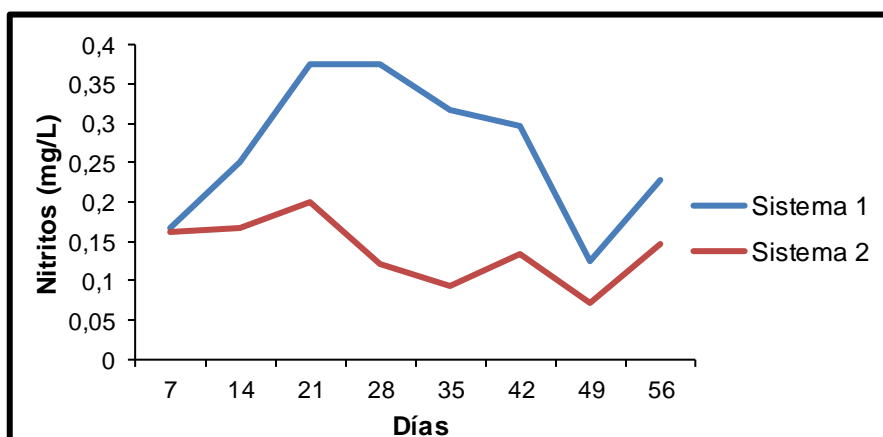
5.7.3 Potencial de Hidrógeno (pH). El promedio de pH fue de 5.87 para el T₀, 5.94 para el T₁, 5.91 para el T₂, 5.92 para el T₃ y 5.85 para el T₄ (Anexo Q).

Figura 17. Comportamiento semanal de pH



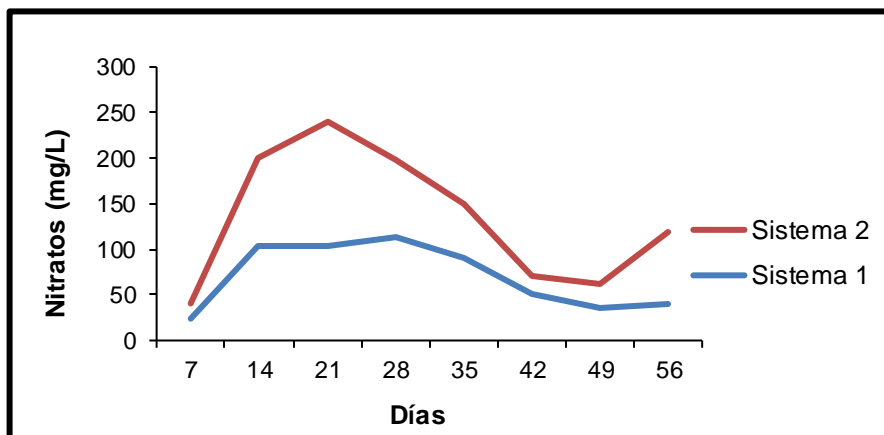
5.7.4 Nitritos. El nivel más alto de Nitritos en el Sistema 1 se lo encontró a los 21 y 28 días con un valor de 0.37 mg/L, por el contrario, el más bajo se dió a los 49 días del periodo de estudio con un valor de 0.12 mg/L, con un promedio de 0,26 mg/L. Por otro lado, en el Sistema 2 se encontró un promedio de 0.13 mg/L, el valor mínimo y máximo fue de 0.07 mg/L a los 49 días y de 0.20 mg/L a los 21 días respectivamente (Anexo R).

Figura 18. Cantidad de Nitritos en el agua



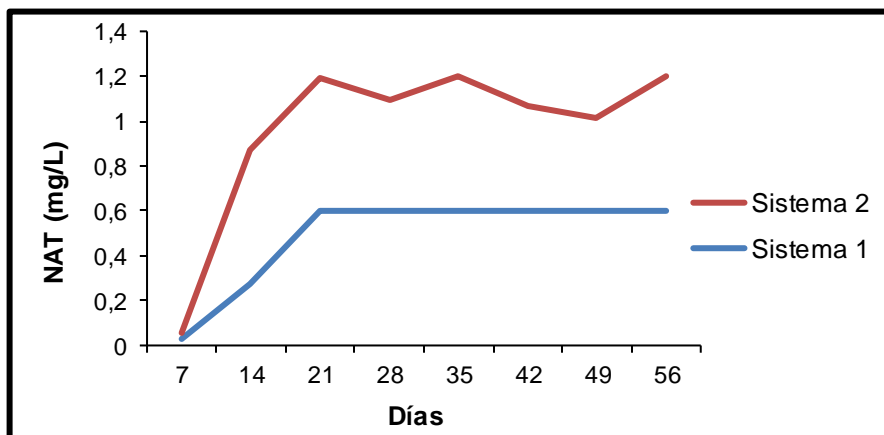
5.7.5 Nitratos. El comportamiento de Nitratos en el Sistema 1 fluctuó entre 23.9 mg/L y 113.4 mg/L con un promedio de 70.02 mg/L; para el caso del sistema 2 se encontró una fluctuación entre 16.7 mg/L y 136.3 mg/L con un promedio de 65.08 mg/L (Anexo S).

Figura 19. Cantidad de Nitratos en el agua



5.7.6 Nitrógeno Amoniacal Total (NAT). Los valores de amonio para el Sistema 1 fluctuaron entre 0.029 mg/L y 0.6 mg/L, siendo este último un valor constante a partir del día 21 hasta el final del estudio, obteniendo un promedio de 0.48 mg/L. En el sistema 2 se encontró un valor mínimo de 0.027 mg/L y un máximo de 0.6 mg/L, teniendo así un promedio de 0.47 mg/L (Anexo T).

Figura 20. Cantidad de Nitrógeno Amoniacal Total en el agua



5.8 RELACIÓN BENEFICIO/COSTO

Para el análisis de esta variable, se tuvieron en cuenta los costos de los alevinos de tilapia roja, el balanceado comercial y el probiótico, además del costo de la energía, que se determinó teniendo en cuenta la capacidad del blower, las unidades del laboratorio y el costo de energía kW/h (Anexo V).

En la Tabla 4 se presentan los costos parciales de los diferentes insumos e implementos que se utilizaron durante la investigación.

Tabla 4. Costos parciales en la investigación

RUBROS	CANTIDAD	COSTOS UNITARIOS (\$)	TOTAL (\$)	(%)
Animales	680	250	170000	8.90
Concentrado comercial (kg)	3	2500	7500	0.39
Probiótico comercial (g)	1	120000	120000	6.28
Bolsas plásticas	4	600	2400	0.13
Manguera de aireación (m)	5	5000	25000	1.31
Tubo PVC 1"	1	18000	18000	0.94
Tubo PVC 1/2"	2	10000	20000	1.05
Codos 1/2"	15	200	3000	0.16
T PVC 1"	5	1000	5000	0.26
T PVC 1/2"	10	200	2000	0.10
Llaves de paso	20	2500	50000	2.62
Limpiador PVC	1	3000	3000	0.16
Pegante PVC	1	5000	5000	0.26
Cinta teflón	4	700	2800	0.15
Tarros plásticos (40 L)	20	45000	900000	47.12
Peróxido de hidrogeno (Gal)	1	16000	16000	0.84

Al igual que en las demás variables estudiadas las diferencias numéricas presentadas no permiten recomendar uno u otro tratamiento, por cuanto, el cálculo final del valor de los ingresos reportados, como se observa en la Tabla 5, se infiere de la variable supervivencia en la cual no se presentaron diferencias estadísticas.

Tabla 5. Relación Beneficio /Costo

Tratamiento	Costo Total (\$)	Número Animales	Precio de Venta (\$)	Ingreso Bruto (\$)	Ingreso Neto (\$)	Beneficio / Costo
T₀	\$33,838	104	\$500	\$52,000	\$18,161	1.54
T₁	\$33,758	96	\$500	\$48,000	\$14,241	1.42
T₂	\$33,837	99	\$500	\$49,500	\$15,662	1.46
T₃	\$33,802	102	\$500	\$51,000	\$17,197	1.51
T₄	\$33,799	104	\$500	\$52,000	\$18,200	1.54

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según Apún *et al*¹⁴⁴, en los últimos años, se ha presentado elevado interés en el uso de bacterias probióticas en acuicultura para mejorar resistencia a enfermedades y crecimiento de cultivos así como también la calidad de agua. A este respecto, en la presente investigación se aislaron cuatro cepas de bacterias con posible potencial probiótico (*Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.*) del tracto gastrointestinal de tilapia (*Oreochromis sp.*) y se evaluó el efecto de ellas en diferentes variables zootécnicas bajo condiciones de acuario, observándose que los resultados obtenidos difieren de lo reportado por diferentes autores, pero también se observaron concordancias con investigaciones en las cuales tampoco se evidenciaron de manera clara los efectos probióticos de las bacterias en evaluación.

Además Apún *et al*¹⁴⁵, afirma que en la actualidad los *Lactobacillus* y *Bacillus* son las bacterias más comúnmente utilizadas para mejorar las condiciones de cultivo, los lactobacilos han sido considerados como probióticos, mientras que los bacilos han sido contemplados como agentes de biorremediación y ambos tienen la capacidad de inhibir posibles bacterias patógenas.

Sin embargo, tal como se mencionó anteriormente, en la presente investigación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables evaluadas, estos resultados son respaldados por los estudios de Dixon y Ramírez¹⁴⁶, y Ridha y Azad¹⁴⁷, donde aseguran que posiblemente la suplementación con probióticos sea necesaria por un ciclo de tiempo más largo para obtener una mejora significativa en cuanto al peso, debido a que se requiere de cierto periodo de tiempo para que las bacterias suplementadas colonicen y se establezcan en el intestino para optimizar los procesos digestivos proporcionando enzimas que ayuden en la extracción de más nutrientes de los alimentos y por lo tanto, mejorar la utilización y asimilación de los mismos.

En cuanto al incremento de peso, Ridha y Azad¹⁴⁸ no obtuvieron diferencias estadísticas significativas en incremento de peso de *Oreochromis sp.* al utilizar una dieta con un alto porcentaje de proteína cruda incluyendo bacterias potencialmente probióticas (*Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.*), sin embargo, Flórez *et al*¹⁴⁹ y Tian *et*

¹⁴⁴ APÚN, Juan, *et al.* Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and suboptimum temperature. En: Journal. Aquaculture Research. Mayo, 2009. vol. 40, no. 8, p. 891.

¹⁴⁵ *Ibid.*, p. 891

¹⁴⁶ DIXON, Beverly y RAMÍREZ, Rachel. Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscar (*Astronotus ocellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). En: Aquaculture. Noviembre, 2003. vol. 227, no. 1-4, p. 424.

¹⁴⁷ RIDHA, Mohammad y AZAD, Ismail. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. En: Aquaculture Research. Junio, 2012. vol. 43, no. 6, p. 850.

¹⁴⁸ *Ibid.*, p. 846-847

¹⁴⁹ FLOREZ, John y ORDOÑEZ, Jesús. Evaluación del efecto de un estimulante de crecimiento tipo probiótico en la fase de alevinaje de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) bajo condiciones de laboratorio. Trabajo de grado

a¹⁵⁰, reportan diferencias significativas en esta variable al incorporar bacterias probióticas al alimento con un alto porcentaje de proteína, demostrando que los probióticos tienen la capacidad de resistir la acción enzimática y mecánica del tracto gastrointestinal, así como también la facultad de generar un efecto benéfico promoviendo el crecimiento y rendimiento de la tilapia.

Por otra parte, Merrifield *et al*¹⁵¹ discutieron la duración de la suplementación del probiótico y declararon que la aplicación a corto plazo tiene la ventaja de estimular el sistema inmune por un periodo de tiempo limitado, mientras que la aplicación constante puede causar inmunosupresión, es así como una aplicación a un término de tiempo corto del probiótico alternando con alimentación normal podría mantener la eficacia probiótica, estos aspectos necesitan estudios sistemáticos para desarrollar una aplicación probiótica más práctica en un tiempo adecuado.

Igualmente, se debe tener en cuenta la dieta utilizada en el ensayo, ya que Lim y Welker¹⁵² afirman que aunque no hay explicación sobre la incidencia de los probióticos suministrando alimento con un alto porcentaje de proteína, como es el caso de este estudio, los probióticos pueden resultar ineficaces con los cambios de la formulación de la dieta, es por esto que el uso de probióticos necesita ser reevaluado con alteraciones en la alimentación y condiciones de cría, además de que la selección adecuada de probióticos es crítica para el éxito en el crecimiento, así como también el uso de más de una especie o tipo de probiótico con las condiciones cambiantes y la etapa de desarrollo, debido a que según Delaney *et al*¹⁵³, en cierta fase de su crecimiento los animales no poseen el tracto digestivo completamente desarrollado, lo que podría ser un limitante en el proceso de colonización del intestino por parte de las bacterias.

Cabe mencionar que Delaney *et al*¹⁵⁴, encontraron que *Bacillus sp.* agregado en el alimento no mejora la supervivencia de *Oreochromis sp.*, afirmando que estos microorganismos no proporcionan efectos beneficiosos en la tilapia, un caso similar se presentó en lo reportado por Campa *et al*¹⁵⁵, quienes estudiaron el impacto de

Ingenieros en Producción Acuícola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias, 2014. 73 p. Trabajo de grado. Ingenieros en producción acuícola. Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias.

¹⁵⁰ TIAN, Ziqiang; WANG, Yanbo y ZHOU, Xuxia. Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. En: Fish Physiol Biochem. Abril, 2009. vol. 36, no. 3, p. 501-509.

¹⁵¹ MERRIFIELD, Daniel, *et al.* The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. En: Aquaculture. Abril, 2010. vol. 302, no. 1-2, p. 10.

¹⁵² LIM, Chhorn y WELKER, Thomas. Use of Probiotics in Diets of Tilapia. En: Aquaculture Research & Development. Noviembre, 2011. vol. 1, no. 14, p. 3.

¹⁵³ DELANEY, Mary; LIM, Chhorn; SHELBY, Richard y YILDIRIM, Mediha. Effects of probiotic diet supplements on disease resistance and immune response of young Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. En: Journal of Applied Aquaculture. Septiembre, 2008. vol. 18, no. 2, p. 31.

¹⁵⁴ *Ibid.*, p. 30

¹⁵⁵ CAMPA, Ángel, *et al.* Effect of *Pediococcus parvulus* and *Candida parapsilosis* on growth and survival of tilapia, *Oreochromis niloticus* and *Oreochromis sp.* En: African J-ournal of Microbiology Research. Junio, 2013. vol. 7, no. 23, p. 2981.

las bacterias probióticas acidolácticas incorporándolas en el alimento encontrando como resultado ninguna acción óptima por parte de las bacterias, esto posiblemente a que los efectos beneficiosos de los probióticos son temporales y estos deben unirse al tracto intestinal y permanecer en el individuo para ejercer su función.

En este mismo sentido es oportuno mencionar que los probióticos adjuntos deben multiplicarse para influir en la microbiota gastrointestinal de su huésped, algo que no se encontró en un estudio realizado por He *et al*¹⁵⁶, donde descubrieron que en el tracto digestivo de juveniles de tilapia, la abundancia relativa de algunas cepas de lactobacilos se rechazó o desapareció, es por esto que estos autores, así como también Lim y Welker¹⁵⁷, aseguran que se debe tener en cuenta el nivel o cantidad utilizada de probióticos y recomiendan mantener la población de probióticos útiles en el aparato digestivo y también determinar las especies microbianas que podrían ser más adecuadas para la suplementación dietética para obtener resultados eficaces.

En el presente estudio se utilizaron poblaciones de 2×10^5 UFC/g menores a las empleadas por Castex *et al*¹⁵⁸, ($2,81 \times 10^6$ UFC/g) quienes no obtuvieron ningún resultado positivo en el rendimiento del crecimiento de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), a diferencia de las usadas por Selim y Reda¹⁵⁹, (1×10^4 UFC/g) que consiguieron mejores porcentajes de supervivencia relativa que el tratamiento control, efecto que también es reportado por Jo *et al*¹⁶⁰, quienes comprobaron que las células probióticas introducidas en el alimento, mejoran el sistema inmune inespecífico y por tanto, optimizan ligeramente la supervivencia de la tilapia, lo anterior es apoyado por Alil *et al*¹⁶¹, los cuales incorporaron cantidades de $8,5 \times 10^6$ UFC/g y $2,5 \times 10^7$ UFC/g, encontrando que no hubieron diferencias significativas en conversión alimenticia aparente al igual que en el presente estudio, además observaron que los peores resultados se obtuvieron en los tratamientos a los que se les suministró la mayor cantidad de probiótico, dado que la ingesta de alimento aumentó gradualmente a medida que el nivel de incorporación de probióticos aumentaba, pues según Elam¹⁶² los probióticos podrían probablemente haber

¹⁵⁶ HE, Suxu; LIU, Wenshu; RAN, Chao; WANG, Wenwen; YANG, Yaling y ZHOU, Zhigang. Effects of dietary scFOS and lactobacilli on survival, growth, and disease resistance of hybrid tilapia. *En*: Aquaculture. Marzo, 2017. vol. 470, no. 50–55, p. 13-16.

¹⁵⁷ LIM y WELKER, Op. cit., p. 2-6.

¹⁵⁸ CASTEX, M., *et al*. Probiotic *Pediococcus acidilactici* modulates both localised intestinal and peripheral immunity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *En*: Fish & Shellfish Immunology. Julio, 2013. vol. 35, no. 4, p. 1097-1104.

¹⁵⁹ SELIM, Khaled y REDA, Rasha. Improvement of immunity and disease resistance in the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. *En*: Fish & Shellfish Immunology. Marzo, 2015. vol. 44, no. 2, p. 496–503.

¹⁶⁰ JO, Jae-Yoon, *et al*. Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. *En*: Fisheries Science. Enero, 2006. vol. 72, no. 4, p. 755–766.

¹⁶¹ ALIL, H., *et al*. Practical aspects and immune response of probiotics preparations supplemented to Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) diets. *En*: Nature and Science. 2010. vol. 8, no. 5, p. 39-43.

¹⁶² ELAM, Talib. Effect of biogen and bio-mos on growth performance, production and some biochemical changes in *Oreochromis Niloticus* and *Mugil Cephalus*. *En*: First Scientific Conference of FVM. (1-4, septiembre: Moshtohor, Egipto). 2004. p. 4.

estimulado el apetito de los peces y aumentado palatabilidad de los alimentos ofrecidos.

Las anteriores consideraciones bajo las cuales se aborda la discusión de este trabajo permite concluir que la dosis de probióticos debe definirse cuidadosamente para evitar una dosificación excesiva con resultados menos eficientes y en consecuencia costos innecesarios, por su parte Aly *et al*¹⁶³, informaron que bajas dosis de probióticos inducen a aumentos significativos de peso después de dos meses de aplicación del producto.

De la misma manera, García y Menezes,¹⁶⁴ tampoco encontraron diferencias en CAA en la adición de probióticos debido probablemente a que el tiempo de uso de los probióticos no fue el suficiente (113 días) para que las bacterias puedan establecerse y reproducirse y de esta manera generar efectos positivos; lo anterior también es afirmado por Albuquerque *et al*¹⁶⁵, quienes no observaron diferencias estadísticas al suministrar probióticos mediante el alimento por 42 y 70 días respectivamente en dos diferentes ensayos y sugieren un mayor tiempo de cultivo u otra forma de administración del producto (a través del agua o combinación entre suministro mediante el agua y alimento), además mencionan que los efectos positivos de los probióticos en el desempeño productivo de los animales no siempre son evidentes, esto puede estar relacionado con las características de cada probiótico utilizado o el nivel de estrés al que están los animales, como son las condiciones de acuario.

Cabe anotar y no se podría dejar de mencionar a Ridha y Azad¹⁶⁶, quienes si obtuvieron resultados positivos con respecto a probióticos, ya que ellos al evaluar el efecto de la alimentación de tres probióticos, dos de ellos autóctonos (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*) y uno comercial, ensayándolos de manera independiente y combinados en el crecimiento de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) encontraron una mejora en crecimiento para el tratamiento donde las diferentes bacterias probióticas estaban combinadas, indicando que una mezcla de bacterias probióticas tiene mayor potencial para mejorar el crecimiento de la tilapia que una sola bacteria, dado que las especies bacterianas individuales eran insuficientes para producir un aumento significativo en el crecimiento y conversión

¹⁶³ ALY, Salah; MOHAMED, Fathi y JOHN, George. Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). En: Aquaculture Research. Marzo, 2008. vol. 39, no. 6, p. 652-654.

¹⁶⁴ GARCÍA, Nilton y MENEZES, Daniel. Quantification of intestinal bacteria, operating cost and performance of fingerlings Nile tilapia subjected to probiotics. En: Latin American Journal of Aquatic Research. Mayo, 2015. vol. 43, no. 2, p. 367-373.

¹⁶⁵ ALBUQUERQUE, D. *et al*. Desempenho e proporção sexual de tilápia vermelha sob à inclusão de probiótico em água mesohalina. En: Archivos de zootecnia. 2010. vol. 59, no. 227, p. 407-411.

¹⁶⁶ RIDHA, Mohammad y AZAD, Ismail. Effect of autochthonous and commercial probiotic bacteria on growth, persistence, immunity and disease resistance in juvenile and adult Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. En: Aquaculture Research. Marzo, 2015. vol. 47, no. 9, p. 6-9.

alimenticia, según Chansue *et al*¹⁶⁷ tal mejora en crecimiento es probablemente causada por el aumento en la tasa de absorción de nutrientes gracias al aumento de las vellosidades intestinales y los procesos digestivos mejorados por varias enzimas digestivas, además Ridha y Azad¹⁶⁸ mencionan que las bacterias intestinales autóctonas tendrían más persistencia en el intestino siendo más efectivas que los probióticos comerciales.

Por otra parte, es importante abordar la discusión relacionada a factores físico-químicos bajos los cuales se desarrolló el presente ensayo; dado que como mencionan Azaza *et al*¹⁶⁹ el crecimiento, la conversión alimenticia y supervivencia de los peces es un proceso complejo afectado por muchos factores, entre ellos el ambiental. Dos Santos *et al*¹⁷⁰ afirman que la temperatura óptima para alimentación, crecimiento y supervivencia oscila entre 22°C y 30 °C, rango en el que se encontró dicho parámetro durante el periodo de éste estudio (26°C a 27°C), indican también que la tasa de crecimiento y supervivencia alcanza su máximo rendimiento a los 30°C, debido a que según Caulton¹⁷¹, los peces que se alimentan a temperaturas más bajas tienen una ingesta diaria menor que los peces alimentados a temperaturas más altas, ya que a temperaturas mayores asimilan más eficientemente los alimentos, por lo dicho anteriormente, se puede afirmar que el desempeño en incremento de peso y supervivencia no se vió afectada directamente por este parámetro, puesto que los valores en los diferentes tratamientos fue similar entre ellos y como López¹⁷² manifiesta, los valores encontrados son considerados como temperaturas efectivas para especies de aguas cálidas como las tilapias y no pudieron haber interrumpido la digestibilidad de los animales y aprovechamiento de nutrientes ya que de acuerdo con Azaza *et al*¹⁷³, éstos procesos se realizan de manera efectiva desde los 25°C.

Castillo¹⁷⁴ menciona que el oxígeno disuelto es uno de los parámetros de gran importancia al igual que la temperatura en un sistema de cultivo, el rango óptimo está por encima de los 4 mg/L. Los valores obtenidos al inicio del ensayo fueron cercanos al valor mínimo recomendado por el autor, sin embargo, empezaron a disminuir ligeramente con el tiempo, esto se debió seguramente a que como

¹⁶⁷ CHANSUE, N., *et al*. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. En: Research in Veterinary Science. Diciembre, 2011. vol. 91, no. 3, p. e96.

¹⁶⁸ RIDHA y AZAD. Effect of autochthonous and commercial probiotic bacteria on growth, persistence, immunity and disease resistance in juvenile and adult Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Op. cit., p. 8.

¹⁶⁹ AZAZA, M; DHRAÏEF, M y KRAÏEM, M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. En: Journal of Thermal Biology. Febrero, 2008. vol. 33, no. 2, p. 98-103.

¹⁷⁰ DOS SANTOS, Bruno; ASSUNÇÃO, Edson y SILVA, Maeli. Growth curves of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains cultivated at different temperatures. En: Acta Scientiarum Animal Sciences. Septiembre, 2013. vol. 35, no. 3, p. 237.

¹⁷¹ CAULTON, M. The importance of habitat temperatures for growth in the tropical cichlid *Tilapia rendalli* Boulenger. En: Journal of Fish Biology. Julio, 1978. vol. 13, no. 1, p. 109.

¹⁷² LÓPEZ, Jorge. Nutrición Acuícola: Fisiología digestiva de los organismos hidrobiológicos de cultivo. Pasto, Colombia: Universidad de Nariño. p. 18.

¹⁷³ AZAZA, DHRAÏEF y KRAÏEM. Op. cit., p. 102.

¹⁷⁴ CASTILLO. Op. cit., p. 43-44.

Menciona Yuan *et al*¹⁷⁵,. Por otra parte, Cantor¹⁷⁶, manifiesta que otros de los factores que influyen en la disminución del oxígeno son la descomposición de la materia orgánica, alimento no consumido, heces, animales muertos, entre otros. Así mismo Muangkeow *et al*¹⁷⁷ menciona que los niveles bajos de oxígeno se debe a que el fitoplancton consume oxígeno, así como la respiración de los peces. No obstante, Valenzuela *et al*¹⁷⁸ asegura que la Tilapia tiene una tolerancia a bajas concentraciones de oxígeno disuelto, incluso, teniendo una presión parcialmente baja es capaz de saturarse de Oxígeno y más aún, de reducir su consumo si la concentración es inferior a 3 mg/L, o menos, usando un metabolismo semi-anaerobio, valores en los cuales oscilaba este parámetro al final del periodo experimental.

Los valores de pH presentaron una leve variación y oscilaron entre 5.85 y 5.94, estos rangos están por debajo de los adecuados para el cultivo de esta especie, de acuerdo a Cantor¹⁷⁹, debido que el rango deseable para el mantenimiento de *Oreochromis sp*, está entre el 6.5 y 9, sin embargo Fleckenstein *et al*¹⁸⁰, y López *et al*¹⁸¹, mencionan que el pH del agua tiende a disminuir posiblemente por una mayor cantidad total de actividad y nitrificación bacteriana en los sistemas SRA, consumiendo (CaCO₃) y produciendo dióxido de carbono lo que hace que el agua sea más ácida.

Los nitritos presentes en el agua se encontraron por encima de lo recomendado por Nicovita¹⁸², quien afirma que se deben mantener por debajo de 0,1 mg/L, no obstante, según Fleckenstein *et al*¹⁸³, los alevines de tilapia son resistentes a altos niveles de nitrito, especialmente con cloruro presente. En cuanto a los nitratos Monsees *et al*¹⁸⁴, aseguran que deben oscilar entre 10 mg/L y 500 mg/L en cultivos

¹⁷⁵ YUAN, Derun, *et al*. Effects of addition of red tilapia (*Oreochromis spp.*) at different densities and sizes on production, water quality and nutrient recovery of intensive culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in cement tanks. *En: Aquaculture*. Enero, 2010. vol. 298, no. 3, p. 233.

¹⁷⁶ CANTOR, Fernando. Manual de producción de Tilapia. Secretaría de Desarrollo Rural de Puebla. Puebla, México. 2007. p. 24. Disponible en internet: <<https://es.slideshare.net/JCAMILOMOR/manual-de-produccion-de-tilapia>>

¹⁷⁷ MUANGKEOW, Banchuen, *et al*. Effects of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone), and Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., stocking density on growth, nutrient conversion rate and economic return in integrated closed recirculation system. *En: Aquaculture*. Septiembre, 2007. vol. 269, no. 1-4, p. 372.

¹⁷⁸ VALENZUELA, Ricardo; MARTÍNEZ, Paula y AREVALO, John. Evaluación preliminar de un sistema de recirculación de aguas para un prototipo implementado en la producción de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *En: Ingeniería y región*. Abril, 2017. vol. 18, no. 2. p. 3.

¹⁷⁹ CANTOR, Fernando. Op. cit., p. 31-33.

¹⁸⁰ FLECKENSTEIN, Leo; TIERNEY, Thomas y RAY, Andrew. Comparing biofloc, clear-water, and hybrid recirculating nursery systems (Part II): Tilapia (*Oreochromis niloticus*) production and water quality dynamics. *En: Aquacultural engineering*. Junio, 2018. vol. 82, no. 80-85, p. 11.

¹⁸¹ LÓPEZ, J; IBÁÑEZ, M y VILLARROEL, M. Using multivariate analysis of water quality in RAS with Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to model the evolution of macronutrients. *En: Aquacultural Engineering*. Mayo, 2013. vol. 54, no. 22-28, p. 26.

¹⁸² NICOVITA. Manual de crianza Tilapia. p. 13

¹⁸³ FLECKENSTEIN, TIERNEY y RAY. Op. cit., p. 11.

¹⁸⁴ MONSEES, Hendrik, *et al*. Chronic exposure to nitrate significantly reduces growth and affects the health status of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in recirculating aquaculture systems. *En: Aquaculture Research*. Junio, 2017. vol. 48, no. 7, p. 3487-3490.

intensivos de tilapia en sistemas SRA rango en el que se encontró este parámetro en los dos sistemas siendo su valores máximos de 113,4 mg/L para el sistema 1 y 136,3 mg/L para el sistema 2. Por su parte los valores de Nitrógeno Amoniacal Total (NAT) al principio del estudio, se encontraron por debajo de los aconsejados por El-Shafai *et al*¹⁸⁵, quienes mencionan que la concentración máxima tolerable para, para alevines de *Oreochromis sp.* es de 0,1 mg/L.

Finalmente, aunque en este bioensayo los datos analizados no presentan diferencias estadísticas entre la inclusión de las bacterias potencialmente probióticas frente al tratamiento control, se podría considerar que un efecto benéfico de estos microorganismos, es que al ser suministrados junto con el alimento, estas colonizan el intestino de los peces y de esta manera puede disminuir el consumo de alimento, gracias a esto resultará menos materia orgánica, reduciendo así, los posibles efluentes de la acuicultura, además, pueden controlar la aparición de patologías y enfermedades tal como lo afirma Jiménez y Günther¹⁸⁶, puesto que según Bylund *et al*¹⁸⁷, al alimentar a los peces con bacterias probióticas, estas también estarán presentes en el agua circundante y podrán también colonizar la piel del pez y otras partes del cuerpo, gracias a que de acuerdo con Barros *et al*¹⁸⁸, los probióticos pueden funcionar como inmunoestimulantes, esto puede explicarse por el hecho de que los microorganismos son capaces de descomponer las moléculas de macronutrientes y convertirlos en aminoácidos, ácidos grasos y carbohidratos sencillos. No obstante, Cha *et al*¹⁸⁹, manifiestan que se dificulta deducir una conclusión sólida o de proporcionar recomendaciones con algún grado de certeza sobre el efecto real de los probióticos en el crecimiento de la tilapia y los peces en general ya que existen numerosas variables involucradas como son tipo de probiótico utilizado, dosis y duración, método de aplicación del probiótico, especies de cepas y peces, tamaño y edad de los peces, parámetros de la calidad del agua, densidad de población, factores del régimen de alimentación, el sistema de cultivo utilizado y otros factores desconocidos y por tanto estos elementos conducirán a resultados variables y hará más difícil una comparación.

En cuanto a la relación Beneficio/Costo, es posible afirmar que aunque se encontraron diferencias estadísticas leves en la rentabilidad entre los tratamientos

¹⁸⁵ EL-SHAFI, Saber; EL-GOHARY, Fatma; GIJZEN, Huub; NASR, Fayza y PETER VAN DER STEEN, N. Chronic ammonia toxicity to duckweed-fed tilapia (*Oreochromis niloticus*). En: Aquaculture. Abril. 2004. vol. 232, no. 1-4, p. 118.

¹⁸⁶ JIMÉNEZ, Ricardo y GÜNTHER, Jorge. Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laboratorio. En: Revista de biología tropical. Diciembre, 2004. vol. 52, no. 4, p. 937-942.

¹⁸⁷ BYLUND, Göran, *et al.* Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. En: Aquaculture. Julio, 2001. vol. 198, no. 3-4, p. 235.

¹⁸⁸ BARROS, Margarida; HISANO, Hamilton; NARVÁEZ, William y PEZZATO, Luiz. Desempenho produtivo de alevinos de tilapia-do-nilo alimentados com levedura e derivados. En: Pesquisa Agropecuária Brasileira. Julio, 2007. vol. 42, no. 7, p. 1037-1041.

¹⁸⁹ CHA, Ji, *et al.* Evaluations of *Bacillus* spp. as dietary additives on growth performance, innate immunity and disease resistance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) against *Streptococcus iniae* and as water additives. En: Aquaculture. Julio, 2013. vol. 402-403, p. 53-55.

que contenían probióticos a excepción del T₄, frente al tratamiento control, probablemente estas no están relacionadas directamente con la incorporación de estos microorganismos, sino que estos resultados están asociados a variables dependientes como es la supervivencia, debido a que para cada tratamiento el número de animales finales fue diferente, por tanto, se dificulta definir si al incorporar bacterias probióticas se va a obtener mayor o menor rentabilidad, sin embargo Castillo *et al*¹⁹⁰ y Cárdenas *et al*¹⁹¹, demostraron que mediante la incorporación de probióticos en la alimentación de alevinos de tilapia roja se podrían obtener mejores resultados al conseguir un mayor índice en esta variable.

¹⁹⁰ CASTILLO, N. y MAYA, C. Evaluación comparativa de un prebiótico y un probiótico en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp*) en estanque tipo invernadero. Trabajo de grado Ingenieros en Producción Acuícola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Departamento de recursos hidrobiológicos, 2008. 74 p.

¹⁹¹ CARDENAS, V. y LOPEZ, J. Evaluación del efecto de la inclusión de probióticos e inmunoestimulantes en el alimento comercial, en el crecimiento y supervivencia de alevinos de arawana plateada (*Osteoglossum bicirrosus*) en condiciones de laboratorio. Trabajo de grados Ingenieros en Producción Acuícola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. Departamento de recursos hidrobiológicos, 2010. 75 p.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

Se logró aislar, identificar y masificar el cultivo de bacterias *Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.* que fueron aisladas a partir de la microbiota del tracto digestivo de alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*), las cuales bajo condiciones de acuario no expresaron su posible potencial probiótico.

Por lo anterior, la adición de probióticos comerciales y consorcios microbianos con posible potencial probiótico obtenidos en esta investigación no influyeron en el incremento de peso, supervivencia y conversión alimenticia aparente, puesto que estadísticamente los valores obtenidos en estas variables no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con probióticos y el tratamiento control.

Se pudo determinar que la población bacteriana del género *Bacillus sp.* realiza levemente mejores efectos de manera independiente que en conjunto con el género *Lactobacillus sp.* sobre el incremento de peso y conversión alimenticia aparente; para el caso de supervivencia resultó de manera contraria, aunque esta se vió afectada probablemente por el manejo y manipulación de los animales durante la investigación y no necesariamente por la incorporación de los dos tipos de bacterias, sin embargo, estas tendencias podrían evidenciarse con mayor fuerza con el transcurso del tiempo.

Con base a la relación Beneficio/Costo, los tratamientos que generaron mejores resultados fueron T₀ y T₄, debido a que para ellos se dio un valor de \$1,54 pesos de ganancia por cada peso invertido, sin embargo, no es posible asegurar la mayor o menor rentabilidad por la inclusión de bacterias, dado que no se encontraron diferencias estadísticas en la supervivencia y la rentabilidad va en función de esta variable.

7.2 RECOMENDACIONES

Las futuras investigaciones deben centrarse en determinar bajo qué condiciones los efectos de los probióticos son óptimos sobre el crecimiento y rendimiento de la tilapia, dado que los resultados probablemente varían de acuerdo a la fase de cultivo, tamaño y especie de los peces, densidad de población, composición de la dieta, forma de suministro y por supuesto tipo y concentración del probiótico.

Las investigaciones que se realicen posteriormente deben aplicar una prolongación del tiempo de ensayo, así como también variar el número de UFC/g utilizadas, esto con el fin de encontrar posiblemente un efecto positivo del consorcio microbiano en las variables de producción, parámetros de calidad de agua, y estado de salud de los animales.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se recomienda la utilización de posibles bacterias probióticas no solo en la evaluación de parámetros zootécnicos, sino también, en pruebas de desafío para evaluar su efectividad en contra de bacterias entéricas.

Se sugiere realizar en estudios posteriores, ensayos en los cuales se puedan evidenciar efectos benéficos por parte de bacterias probióticas como son la capacidad de promover metabolitos que generen incompatibilidad contra los organismos patógenos, para de esta manera activar y favorecer el sistema inmunológico, así como también proteger y preservar la mucosa del intestino.

8. BIBLIOGRAFÍA

ABASOLO, Fernando. Selección y evaluación de bacterias del tracto digestivo del pectínido mano de león (*Nodipecten sunbnodosus*) y de la concha de nácar (*Pteria sterna*) con uso potencial probiótico en la acuicultura de bivalvos marinos. Tesis de Doctor en ciencias. La Paz: Centro de investigaciones biológicas del Noroeste, S. C, 2015. 37 p.

ÁGUILA, Magdalena y RUIZ, Alan. Efecto de una dieta basada en insumos vegetales en el crecimiento de juveniles de *Colossoma macropomum* en crianza, Yurimaguas - Loreto, 2015. Trabajo de grado biólogos acuicultores. Yurimaguas: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Facultad de ciencias biológicas, 2016. 27 p. Disponible en internet: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4449/Magdalena_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ALBUQUERQUE, D. *et al.* Desempenho e proporção sexual de tilápia vermelha sob à inclusão de probiótico em água mesohalina. En: Archivos de zootecnia. 2010. vol. 59, no. 227, p. 407-411.

ALIL, H., *et al.* Practical aspects and immune response of probiotics preparations supplemented to Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) diets. En: Nature and Science. 2010. vol. 8, no. 5, p. 39-43.

AL- HARBI, Ahmed y UDDIN, Naim. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. En: Aquaculture 250. Diciembre, 2005. vol. 250, no. 3-4, p. 571.

AL- HARBI, Ahmed y UDDIN, Naim. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia. En: Aquaculture. Mayo, 2004. vol. 229, no. 1, p. 42.

ALTAMIRANO, Carlos. Evaluación de la efectividad del Probiótico “*Sanolife Pro*” en estanques de cultivo de camarones “*Litopenaeus vannamei*” en la Granja Acuicultura Torrecillas, Chinandega, Nicaragua, en el periodo comprendido de Junio a Septiembre, 2008. Trabajo de grado Ingeniero Acuícola. León: Universidad Autónoma de Nicaragua. Facultad de ciencias y tecnología, 2009. 7 p.

ALY, Salah; MOHAMED, Fathi y JOHN, George. Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). En: Aquaculture Research. Marzo, 2008. vol. 39, no. 6, p. 652-654.

APÚN, Juan, *et al.* Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and

suboptimum temperature. En: Journal. Aquaculture Research. Mayo, 2009. vol. 40, no. 8, p. 891.

ARELLANO, Eliana y BENÍTEZ, Diana. Evaluación de un consorcio microbiano (*Lactobacillus sp* y *Bacillus sp*) con potencial probiótico en la alimentación de alevinos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo condiciones de laboratorio en la Universidad de Nariño. Trabajo de grado Ingenieras en Producción Acuicola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. Departamento de Recursos Hidrobiológicos, 2017. 36 p.

ARREDONDO, José Luis y GUZMÁN, Manuel. Actual situación taxonómica de las especies de la tribu tilapiini (Pisces: Cichlidae) introducidas en México. En: Ser. Zool. Enero, 1986. Vol. 56, N°. 2, p. 555-572.

AUNAP. Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca. Plan Nacional para el Desarrollo de la Acuicultura Sostenible en Colombia – PlaNDAS. Introducción. Bogotá D.C.: Imprenta Nacional de Colombia, 2014. 6 p. ISBN: 978-958-57974-3-7.

AYALA, Nahúm. Estudio comparativo de los efectos de los anestésicos metanosulfonato de tricaína (MS-222) y eugenol, para su uso en el pez cebra (*Danio rerio*) como modelo experimental. Trabajo de grado de Doctor veterinario. Córdoba: Universidad de Córdoba. Facultad de veterinaria, 2014. 39 p.

AZAZA, M; DHRAÏEF, M y KRAÏEM, M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. En: Journal of Thermal Biology. Febrero, 2008. vol. 33, no. 2, p. 98-103.

AZEVEDO, Rafael; TAVARES, Luis. Use of Probiotic in Aquaculture, En: INTECH, 2012. Capítulo 6, p. 104.

BAILÓN, Lucía; CRUZ, Roberto y CERVANTES, Armando. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de estudios superiores Zaragoza, 2003. 92 p.

BARROS, Margarida; HISANO, Hamilton; NARVÁEZ, William y PEZZATO, Luiz. Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-nilo alimentados com levedura e derivados. En: Pesquisa Agropecuária Brasileira. Julio, 2007. vol. 42, no. 7, p. 1037-1041.

BENAVIDES, Heidy. Propuesta de guía de aplicación de técnicas de microbiología (Bacterias y hongos) para ser utilizado en microbiología general. Trabajo de grado Licenciada en química y farmacia. San Salvador: Universidad de El Salvador. Facultad de química y farmacia, 2007. 38 p.

BETANCOURT, Diana. Efecto de *Lactobacillus plantarum* Lab 9 sobre el crecimiento y sobrevivencia de alevinos y juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). Trabajo de grado Biólogo. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias exactas y naturales. Departamento de Biología, 2014. 36 p.

BLANCO DE LA HOZ, Jesús y ESTÉVEZ, David. Proyecto empresarial “Empresa productora de tilapia y servicios para la producción piscícola. Suteki innovation SAS”. Trabajo de grado Zootecnista. Bogotá: Universidad de ciencias aplicadas y ambientales. Facultad de ciencias pecuarias, 2019. 16 p.

BORJA, Francisco; GONZÁLES, Luis y QUINTERO, Victoria. Evaluación de alternativas para climatización de estanques con energía solar para cultivo de tilapia roja (*Oreochromis sp*), localizados en la zona fría del Valle del Cauca, Colombia. En: Revista Facultad Nacional de Agronomía. Mayo, 2006. vol. 59, no.1, p. 3296.

BRITO, Fredy. Efecto de la reutilización del agua en la crianza y producción de tilapia roja. Trabajo de grado Ingeniero agropecuario. Cuenca: Universidad de Azuay. Facultad de Ciencia y Tecnología, 2009. 6 p.

BYLUND, Göran, *et al.* Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. En: Aquaculture. Julio, 2001. vol. 198, no. 3-4, p. 235.

CAHILL, Marian. Bacterial Flora of Fishes: A Review. En: Microbial Ecology. Enero, 1990. vol. 19, no. 21-41, p. 38.

CALVO, Pamela y ZÚÑIGA, Doris. Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus spp.* aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). En: Revista de Ecología aplicada. Abril, 2010. vol. 9, no. 1, p. 33.

CAMACHO, A. *et al.* Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). En: Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos. 2 ed. México: Facultad de química, UNAM. 2009. p. 1.

CAMPA, Ángel, *et al.* Effect of *Pediococcus parvulus* and *Candida parapsilosis* on growth and survival of tilapia, *Oreochromis niloticus* and *Oreochromis sp.* En: African J-ournal of Microbiology Research. Junio, 2013. vol. 7, no. 23, p. 2981.

CANTOR, Fernando. Manual de producción de Tilapia. Secretaría de Desarrollo Rural de Puebla. Puebla, México. 2007. p. 24. Disponible en internet: <<https://es.slideshare.net/JCAMILOMOR/manual-de-produccion-de-tilapia>>

CARDENAS, V. y LOPEZ, J. Evaluación del efecto de la inclusión de probióticos e inmunoestimulantes en el alimento comercial, en el crecimiento y supervivencia de

alevinos de arawana plateada (*Osteoglossum bicirrosus*) en condiciones de laboratorio. Trabajo de grados Ingenieros en Producción Acuícola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. Departamento de recursos hidrobiológicos, 2010. 75 p.

CARVAJAL ECHEVERRI, Juan Pablo. Comparación de Parámetros zootécnicos y de calidad de agua de tres sistemas de precría de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en el Municipio de Puerto Triunfo. Trabajo de grado Zootecnista. Caldas: Corporación Universitaria Lasallista, Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias, 2014. 17 p.

CASTAÑEDA, Estefanía y SÁNCHEZ, Ligia. Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género *Bacillus* sp., primer paso para entender su efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. En: NOVA. Diciembre, 2016. vol. 14, no. 26, p. 53-58.

CASTELL JD Y TIEWS K. Report of the European Inland Fisheries Advisory Commission EIFAC, International Union of Nutritional Sciences-IUNS and International Cake Exploration Society-ICES Working group on the standarization of methodology in fish nutrition research. Hamburg, Alemania, 1980.

CASTEX, M., *et al.* Probiotic *Pediococcus acidilactici* modulates both localised intestinal and peripheral-immunity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). En: Fish & Shellfish Immunology. Julio, 2013. vol. 35, no. 4, p. 1097-1104.

CASTILLO CAMPO, Luis Fernando. Tilapia roja. Una evolución de 25 años, de la incertidumbre al éxito. Cali, Colombia. 2006. p. 4.

CASTILLO, N. y MAYA, C. Evaluación comparativa de un prebiótico y un probiótico en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis* sp) en estanque tipo invernadero. Trabajo de grado Ingenieros en Producción Acuícola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Departamento de recursos hidrobiológicos, 2008. 74 p.

CAULTON, M. The importance of habitat temperatures for growth in the tropical cichlid *Tilapia rendalli* Boulenger. En: Journal of Fish Biology. Julio, 1978. vol. 13, no. 1, p. 109.

CHA, Ji, *et al.* Evaluations of *Bacillus* spp. as dietary additives on growth performance, innate immunity and disease resistance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) against *Streptococcus iniae* and as water additives. En: Aquaculture. Julio, 2013. vol. 402-403, p. 53-55.

CHANSUE, N., *et al.* Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. En: Research in Veterinary Science. Diciembre, 2011. vol. 91, no. 3, p. e96.

CHUMACERO, Berenice. Diversidad genética y filogenia de bacterias pertenecientes al género *Bacillus*, tolerantes a cromo, asociadas al mezquite (*Prosopis Laevigata*). Trabajo de grado de Máster en ciencias (Microbiología). Puebla: Benemérita universidad autónoma de puebla. Centro de investigación en ciencias microbiológicas- ICUAP, 2019. 28 p.

CORRALES, Cornelia. Uso de promotores de crecimiento *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis* en el alimento de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). Trabajo de grado Ingeniera Agrónoma. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana. Carrera de agroindustria alimentaria, 2015. 2 p.

COTA, L; LUNA, A; FIERRO, J y ALMARAZ, J. Efecto de prebióticos y microorganismos con potencial probiótico en la supervivencia y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus*, cultivada en condiciones de laboratorio. En: XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. (Sinaloa, México). [citado en octubre de 2018]. p. 1.

CRUZ, María; ZAMUDIO, Marcela; CORONA, Alma; GONZÁLEZ, José y ROJAS, Rafael. Importancia y estudios de las comunidades microbianas en los recursos y productos pesqueros. En: Ecosistemas y Recursos Agropecuarios. Comunidades microbianas en los productos pesqueros. Agosto, 2014. vol. 2, no. 4, p. 100.

DELANEY, Mary; LIM, Chhorn; SHELBY, Richard y YILDIRIM, Mediha. Effects of probiotic diet supplements on disease resistance and immune response of young Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. En: Journal of Applied Aquaculture. Septiembre, 2008. vol. 18, no. 2, p. 31.

DIXON, Beverly y RAMIREZ, Rachel. Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscar (*Astronotus ocellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). En: Aquaculture. Noviembre, 2003. vol. 227, no. 1-4, p. 424.

DOMINGUEZ, Omar. Los Sistemas Acuícolas de Recirculación: ¿una alternativa para el cultivo sustentable de peces ornamentales en el Estado de Morelos? En: Scielo, Sociedades Rurales, Producción Y Medio Ambiente. Mayo, 2012. vol. 12, no. 24. p. 212.

DORMAN, H y DEANS, S. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. En: Journal of Applied Microbiology. Febrero, 2000, vol. 88, no. 2, p 314.

DOS SANTOS, Bruno; ASSUNÇÃO, Edson y SILVA, Maeli. Growth curves of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains cultivated at different temperatures. En: Acta Scientiarum Animal Sciences. Septiembre, 2013. vol. 35, no. 3, p. 237.

ELAM, Talib. Effect of biogen and bio-mos on growth performance, production and some biochemical changes in *Oreochromis Niloticus* and *Mugil Cephalus*. En: First Scientific Conference of FVM. (1-4, septiembre: Moshtohor, Egipto). 2004. p. 4.

EL-SHAFI, Saber; EL-GOHARY, Fatma; GUZEN, Huub; NASR, Fayza y PETER VAN DER STEEN, N. Chronic ammonia toxicity to duckweed-fed tilapia (*Oreochromis niloticus*). En: Aquaculture. Abril. 2004. vol. 232, no. 1-4, p. 118.

ENRIQUEZ, Julio y ORDOÑEZ, Gabriela. Evaluación del efecto de la hormona 17 alfa-metiltestosterona, en la inducción al sexo de embriones de tilapia roja (*Oreochromis sp*). Trabajo de grado Ingeniero en producción acuícola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Departamento de Recursos hidrobiológicos, 2010. 27 p.

ESCOBAR, Laura; OLVERA, Miguel y PUERTO, César. Avances Sobre la Ecología Microbiana del Tracto Digestivo de la Tilapia y Sus Potenciales Implicaciones. Mérida: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Mérida. 2006. p. 111-112.

ESPAÑA, A. Guía de Laboratorios de Microbiología. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Disponible en internet: <<https://es.scribd.com/doc/176432601/Practicas-de-Laboratorio-Microbiologia-Alex>>

ESPINOZA, Ítalo. Usos y aplicaciones de probióticos en el cultivo de camarón y sus mecanismos de acción. Trabajo de grado Ingeniero acuícola. Machala: Universidad técnica de Machala. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2017. 9-10 p.

ESTELA, Waldir, *et al*. Producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* L10 en cultivos batch y continuo. En: Revista Peruana de Biología. Diciembre, 2007. vol. 14, no. 2, p. 4.

FAO. 2010. Departamento de Pesca y Acuicultura. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma, 2010. p. 107.

FAO. 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Comercio y productos del pescado. Roma, 2014. p. 66. Disponible en internet: <<http://www.fao.org/3/a-i3720s.pdf>>

FAO. 2006. Probióticos en los alimentos, propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Roma, 2006. p. 3.

FERNANEZ, A.; GARCIA, C.; SAÉZ, J. y VALDEZATE, S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. En: Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Junio, 2011. vol. 29, no. 8, p. 602.

FLECKENSTEIN, Leo; TIERNEY, Thomas y RAY, Andrew. Comparing biofloc, clear-water, and hybrid recirculating nursery systems (Part II): Tilapia (*Oreochromis niloticus*) production and water quality dynamics. En: Aquacultural engineering. Junio, 2018. vol. 82, no. 80-85, p. 11.

FLORES, M; BRIONES, L y NOVOA, M. Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). En: Nutrición acuícola Memorias del Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. 2002. vol. 6, p. 314-335, Citado por GUTIÉRREZ, DAVID, MONTOYA y BETANCUR. Op. cit., p. 117.

FLOREZ, John y ORDOÑEZ, Jesús. Evaluación del efecto de un estimulante de crecimiento tipo probiótico en la fase de alevinaje de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) bajo condiciones de laboratorio. Trabajo de grado Ingenieros en Producción Acuícola. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias, 2014. 73 p. Trabajo de grado. Ingenieros en producción acuícola. Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias.

FULTON, Mac Donald y SCHAEFFER, Alice. A simplified method of staining endospores. En: Science. Febrero, 1933. vol. 77, p. 194.

GÁLVEZ, R; GÓMEZ, O; SILVA, G; RÍOS, F y QUINTERO, D. Tratamiento con extracto de *Azadirachta indica* en aguas residuales porcinas contaminadas con *Salmonella typhi*. En: Revista Latinoamericana de Recursos Naturales. 2013. vol. 9, no. 1, p. 65.

GÁMEZ, Dáninso; MORÓN, Eliana y FUENTES, Juan. Descripción del hábito alimentario de doce especies de peces asociados a la ciénaga grande de Santa Marta, Colombia. En: Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras – INVEMAR. Junio, 2014. vol. 43, no. 1, p. 37.

GARCÍA, Nilton y MENEZES, Daniel. Quantification of intestinal bacteria, operating cost and performance of fingerlings Nile tilapia subjected to probiotics. En: Latin American Journal of Aquatic Research. Mayo, 2015. vol. 43, no. 2, p. 367-373.

GARCÍA, R.; GUTIÉRREZ, L. y DAVID, C. El uso de los probióticos en la industria acuícola. En: Alimentos hoy. Diciembre, 2015. vol. 23, no. 36, p. 165 - 166.

GONZÁLEZ, Fabián; GONZÁLEZ, Edelia. Criterios de calidad de los microorganismos probióticos y evidencias sobre efectos hipocolesterolémicos. En: Revista Salud Pública y Nutrición. Marzo, 2006. vol. 7, no. 1, p. 2.

GUERRERO, M.; SOLERA, P. y ARAYA, M. Selección de cepa de microalgas para la producción de aceites como fuente de Biocombustibles y otros derivados. Proyecto de Investigación. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica, 2013. 4 p.

GUTIÉRREZ RAMIREZ, Luz Adriana. Caracterización de cepas de *Bacillus sp* y Bacterias ácido lácticas con actividad probiótica en el tracto digestivo de Tilapia roja (*Oreochromis sp.*) como potencial consorcio para procesos de microencapsulación. Trabajo de grado de Doctora en Biotecnología. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, 2016. 7-8 p.

GUTIÉRREZ, Luz; DAVID, Carlos; MONTOYA, Olga y BETANCUR, Eliana. Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). En: Revista Salud Animal. Agosto, 2016. vol. 38, no. 2, p. 113-114.

GUTIÉRREZ, Luz Adriana; MONTOYA, Olga; VÉLEZ, Juliana. Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. En: Producción + Limpia. Junio, 2013. vol. 8, no.1, p. 137.

HE, Suxu; LIU, Wenshu; RAN, Chao; WANG, Wenwen; YANG, Yaling y ZHOU, Zhigang. Effects of dietary scFOS and lactobacilli on survival, growth, and disease resistance of hybrid tilapia. En: Aquaculture. Marzo, 2017. vol. 470, no. 50–55, p. 13-16.

HERNÁNDEZ, C; AGUIRRE, G y LÓPEZ, D. Sistemas de producción de acuacultura con recirculación de agua para la región norte, noreste y noroeste de México. En: Revista Mexicana de Agronegocios. Julio- Diciembre, 2009. vol. 25, p. 121.

IÑIGUEZ, C.M; BOLADO, E y ACEDO, E. Probióticos: Principios y aplicaciones prácticas. Capítulo 10. En: Los Alimentos Funcionales – Un Nuevo Reto Para La Industria De Alimentos. Enero, 2014. p. 268-275.

JIMBO JARAMILLO, Jefferson Israel. Uso de probióticos en el cultivo de camarón como alternativa a la prevención de enfermedades. Trabajo de grado Ingeniero Acuicultor. Machala: Universidad Técnica de Machala. Carrera de Ingeniería Acuícola, 2018. 11 p.

JIMÉNEZ, Ricardo y GÜNTHER, Jorge. Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laboratorio. En: Revista de biología tropical. Diciembre, 2004. vol. 52, no. 4, p. 937-942.

JO, Jae-Yoon, *et al.* Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. En: Fisheries Science. Enero, 2006. vol. 72, no. 4, p. 755–766.

KUMAR, Vikash; ROY, Suvra; KUMAR, Dharmendra y KUMAR, Uttam. Application of probiotics in shrimp aquaculture: Importance, mechanisms of action, and methods of administration. En: Reviews in Fisheries Science & Aquaculture. Junio, 2016. vol. 24, no. 4, p. 345-346.

LARA, Cecilia y BURGOS Ángela. Potencial probiótico de cepas nativas para uso como aditivos en la alimentación avícola. En: Revista Colombiana de biotecnología. Julio, 2012. vol. 14, no. 1, p. 32.

LEÓN SÁNCHEZ, Rafael. Caracterización biológica y productiva de cinco líneas de tilapia del género *Oreochromis spp* (Pisces: *Cichlidae*), que se cultivan en México. Trabajo de grado de Doctor en Ciencias Biológicas. Guadalajara: Universidad de Guadalajara México. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, 2001. 6 p.

LIM, Chhorn y WELKER, Thomas. Use of Probiotics in Diets of Tilapia. En: Aquaculture Research & Development. Noviembre, 2011. vol. 1, no. 14, p. 3.

LLANOS, Maritza. Bacterias solubilizadoras de fosfato del género *Bacillus* en suelos de la provincia de el Collao (Puno) y su efecto en la germinación y crecimiento de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en condiciones de invernadero. Trabajo de grado Licenciada en biología. Puno: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de ciencias biológicas, 2017. 42 p.

LÓPEZ, J; CASTILLO, F y SALAVERT, M. Microbiología aplicada. En: Técnicas de identificación. Capítulo 3. España, 2008. p. 35.

LÓPEZ, J; IBÁÑEZ; M y VILLARROEL, M. Using multivariate analysis of water quality in RAS with Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to model the evolution of macronutrients. En: Aquacultural Engineering. Mayo, 2013. vol. 54, no. 22-28, p. 26.

LÓPEZ, Jorge. Nutrición Acuicola: Fisiología digestiva de los organismos hidrobiológicos de cultivo. Pasto, Colombia: Universidad de Nariño. p. 18.

LUIS VILLASEÑOR, Irasema Elizabeth. Efecto de probióticos en la modulación de la microbiota intestinal y respuesta inmune del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Trabajo de grado de Doctor en ciencias. La Paz: Centro de investigaciones biológicas del Norte, S.C. Programa de Estudios de Posgrado, 2012. 5 p.

MARTÍNEZ, Víctor y MENDOZA, Wilber. Comportamiento del crecimiento de juveniles de tilapia *Oreochromis niloticus*, utilizando alimento comercial: para tilapia

al 28% vs para camarón al 30%. Trabajo de grado Ingenieros acuícolas. León: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Facultad de Ciencias y Tecnología, 2015. 12 p.

MADIGAN, M. Biología de los microorganismos. 10 ed. Madrid: Pearson Education/Prentice Hall, 2004. 607-612 p, Citado por, SALAZAR, Y. y SÁNCHEZ, E. Evaluación de consorcios microbianos conformados a partir de aislamientos bacterianos con capacidad degradadora de tetranitrato de pentaeritritol (PETN) y trinitrotolueno (TNT). Trabajo de grado Ingenieros ambientales y sanitarios. Bogotá: Universidad de la Salle. Facultad de ingeniería, 2011. 19 p.

MAHECHA, Catalina. Efecto de la inclusión de probióticos y prebióticos sobre el desempeño productivo y la sobrevivencia de alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) variedad chitralada. Trabajo de grado Bióloga marina. Bogotá: Fundación universitaria de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Facultad de biología marina, 2006. 16 p.

MAIGUAL, Yemall; SÁNCHEZ, Iván y MATSUMOTO, Tsunao. Desempeño de tanques decantadores de sólidos en un sistema de recirculación para producción de tilapia. En: Revista MVZ. Septiembre, 2013. vol. 18, no. 2, p. 3493.

MALDONADO, Milviana. Aislamiento e identificación de cepas bacterianas de ambientes nativos y su aplicación biorremediadora en el cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Trabajo de grado de Magíster en Ciencias con Énfasis en Manejo Sustentable de Recursos Bioacuáticos y de Medio Ambiente. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Naturales, 2012. 40 p.

MARTINEZ, María Paz. Resultados preliminares sobre el uso de lodos de pisciculturas sobre suelos agropecuarios de origen volcánico de la Patagonia Occidental (AYSÉN). Sistemas de producción acuícola en fase terrestre: recirculación y flujo continuo. Boletín INIA, no. 223. Coyhaique: Christian Hepp K, 2012. 12 p. ISSN 0717-4829.

MELGAR, Carolina, *et al.* Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: *Penaeidae*) en cultivo intensivo. En: Revista Biología tropical. Septiembre, 2013. vol. 61, no. 3, p. 12-17.

MERRIFIELD, Daniel, *et al.* The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. En: Aquaculture. Abril, 2010. vol. 302, no. 1-2, p. 10.

MILIÁN, Gretel; PÉREZ, M. y BOCOURT, R. Empleo de probióticos basado en *Bacillus sp.* y de sus endospora sen la producción avícola. En: Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 2008. vol. 42, no. 2, p. 119.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Agenda productiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la tilapia. Análisis de la cadena productiva de la tilapia. Bogotá D.C.: Giro Editores Ltda., 2007. 21 p. ISBN: 978-958-97128-4-9. Disponible en internet: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4999/1/2008313115612_Tilapia.pdf>

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Estrategia de política para el sector de pesca y acuicultura. El sector de la pesca y la acuicultura en Colombia. Bogotá D.C., 2019. 2-6 p.

MONCAYO, Antonio. Estudio microbiológico de conservas vegetales y condiciones óptimas del proceso de apertización. Trabajo de grado de Máster universitario en Tecnología e Industria Alimentaria. Sevilla: Universidad de Sevilla, 2017. 45 p.

MONROY, María, *et al.* Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos acuáticos. En: ContactoS. 2012. vol. 85, p. 45.

MONSEES, Hendrik, *et al.* Chronic exposure to nitrate significantly reduces growth and affects the health status of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in recirculating aquaculture systems. En: Aquaculture Research. Junio, 2017. vol. 48, no. 7, p. 3487-3490.

MORANTE, Laura y ABASOLO, Fernando. Bacterias degradadoras de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con hidrocarburos. 1 ed. Ecuador: ColloQUIUM, 2019. 21 p. ISBN: 978-9942-814-33-3.

MORENO, Lizeth. Aislamiento y Selección de *LactoBacillus* sp. con potencial probiótico a partir de pan de abejas. Trabajo de grado de Magister en Ciencias-Microbiología. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, 2012. 17 p.

MUANGKEOW, Banchuen, *et al.* Effects of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone), and Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., stocking density on growth, nutrient conversion rate and economic return in integrated closed recirculation system. En: Aquaculture. Septiembre, 2007. vol. 269, no. 1-4, p. 372.

NOGUERA SEGURA, Carolina. Aislamiento, identificación y valoración *In vitro* del potencial probiótico de cepas bacterianas nativas de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). Trabajo de grado Biólogo marino. Santa Marta: Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de ciencias naturales, 2009. 12 p.

NUÑEZ DE LA ROSA, Melisa Gisela. Evaluación preliminar de las poblaciones bacterianas asociadas al tracto intestinal de la tilapia (*Oreochromis niloticus*)

expuesta a aceites esenciales de orégano en la dieta. Tesis de Magister en Ciencias-Microbiología. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, 2011. 5 p.

OCDE. 2016. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. Colombia. En: Pesca y acuicultura en Colombia. Disponible en internet: <https://www.oecd.org/colombia/Fisheries_Colombia_SPA_rev.pdf>

OCHOA, Diana y MONTOYA, Alexandra. Consorcios microbianos: Una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. En: Revista Facultad de Ciencias Económicas de la Universidad Militar Nueva Granada. Diciembre. 2010, vol. 18, no. 2, p. 60-61.

OCHOA, Leonel y OLMOS, Jorge. The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. En: Revista Food microbiology. Octubre, 2006. vol. 23, no. 6, p. 519-525.

OFICINA DE PLANEACIÓN, Universidad de Nariño. San Juan de Pasto.

OSPINA, Amparo. Evaluación de *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* como agentes probióticos sobre la resistencia a infecciones e incremento en peso de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). Trabajo de grado Biólogo marino. Santa Marta: Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Ciencias Naturales, 2009. 16-17 p.

PÉREZ, Manuel; MILIÁN, Grethel; RONDÓN, Ana; BOCOURT, Ramón y TORRES, Verena. Efecto de endosporas de *Bacillus subtilis* E-44 con actividad probiótica sobre indicadores fermentativos en órganos digestivos e inmunológicos de pollos de engorde. En: Revista Sociedad Venezolana de Microbiología. Octubre. 2015. vol. 35, no. 2, p. 92.

PETERSON, Mark; SLACK, William; BROWN-PETERSON, Nancy y McDONALD, Jennifer. Reproduction in Nonnative Environments: Establishment of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, in Coastal Mississippi Watersheds. En: Copeia. Diciembre, 2004. Vol. 2004, N° 4. Department of Coastal Sciences. Jackson, Mississippi. p. 845.

PROCOLOMBIA. Inversión en el sector de la acuicultura. ¿Por qué invertir en el sector de la acuicultura en Colombia?. Bogotá D.C., 2016. 5 p.

RAGAZZO, Juan, *et al.* Selección de cepas de *Bacillus spp.* productoras de antibióticos aisladas de frutos tropicales. En: Revista Chapingo. Serie horticultura. Febrero, 2011. vol. 17, p. 6.

RIDHA, Mohammad y AZAD, Ismail. Effect of autochthonous and commercial probiotic bacteria on growth, persistence, immunity and disease resistance in

juvenile and adult Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. En: Aquaculture Research. Marzo, 2015. vol. 47, no. 9, p. 6-9.

RIDHA, Mohammad y AZAD, Ismail. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. En: Aquaculture Research. Junio, 2012. vol. 43, no. 6, p. 850.

RINGO, Einar, *et al.* Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. En: Aquaculture Research. Marzo, 2010. vol 41, p. 451.

RODRIGUEZ, Icela; SALAZAR, Marco y VILLALOBOS, Eduard. *Lactobacillus* spp. del tracto intestinal de *Gallus gallus* con potencial probiótico. En: Revista científica de la Facultad de Ciencias Biológicas – REBIOL. Diciembre, 2012. vol. 32, no. 2, p. 67

RODRÍGUEZ ORTIGOZA, Angélica. Probióticos en la producción piscícola. Trabajo de grado de Especialista en Biotecnología Agraria. Neiva: Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD. Facultad de Ciencias Agrarias, Pecuarias y del Ambiente – ECAPMA, 2017. 13 p.

SAAVEDRA MARTINEZ, Maria Auxiliadora. 2006. Manejo del cultivo de Tilapia. Managua, 2006. p. 6. Disponible en internet: <<http://www.crc.uri.edu/download/MANEJO-DEL-CULTIVO-DE-TILAPIA-CIDEA.pdf>>

SALAZAR, Blanca y MONTOYA, Olga. Importancia de los Probióticos y Prebióticos en la salud humana. En: Vial, revista de la facultad de química farmacéutica. Marzo, 2003.vol.10, no. 2, p. 22.

SANCHEZ DE LA CRUZ, José Miguel. Empleo de probióticos en el sector acuícola. Trabajo de grado Licenciado en Biología Marina y manejo integral de cuencas. Tonalá: Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Instituto de Ciencias Biológicas Chiapas, 2014. 11-12 p.

SANDOVAL, Andrés. Aislamiento y reconstrucción de consorcios microbianos que permitan la optimización de la producción de biogás a partir de fangos residuales. Trabajo de grado Microbiólogo. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, 2018. 25 p.

SARAVIA, Rocío. Evaluación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos que influyen en la mortalidad de juveniles de *Anisotremus scapularis* “Sargo” en el Centro de Acuicultura Morro Sana – Tacna. Trabajo de grado Bióloga Microbióloga. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna. Facultad de Ciencias, 2019. 37 p.

SELIM, Khaled y REDA, Rasha. Improvement of immunity and disease resistance in the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. En: Fish & Shellfish Immunology. Marzo, 2015. vol. 44, no. 2, p. 496–503.

SOBRINO, Julián. Caracterización parcial, bioquímica e inmunológica, de una sustancia antimicrobiana producida por *Lactobacillus sake* 148. Trabajo de grado de Doctor en Veterinaria. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria, 1993. 23 p.

SORROZA *et al.* Uso de probióticos en acuicultura. En: Rev. Canaria de las Ciencias Veterinarias. 2010. p. 53.

SOTO, Norman y GONZÁLEZ, Elvis. Efecto del uso de tres tratamientos de probióticos sobre algunos parámetros poblacionales y biológicos de los estadios desde Nauplio Cinco (N5) A Postlarva Uno (PL1) de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en el laboratorio LARVINIC, Las Peñitas, León, Nicaragua. Trabajo de grado Licenciados en Biología. León: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Facultad de Ciencia y Tecnología, 2009. 8 p.

TIAN, Ziqiang; WANG, Yanbo y ZHOU, Xuxia. Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. En: Fish Physiol Biochem. Abril, 2009. vol. 36, no. 3, p. 501-509.

TIMMONS, M; HOLDER, J y PIEDRAHITA, R. Acuicultura en sistemas de recirculación. Ithaca, USA: LLC Edición, 2009. 959 p., Citado por, GARCÍA, Daury; GALLEGO, Iván; DÍAZ, Carlos; FALL, Cheikh y BURROLA, Cristina. Evaluación de un sistema de recirculación y acondicionamiento de agua en truticultura. En: Tecnología y Ciencias del agua. Abril-Junio, 2011. vol. 2, no. 2, p. 83.

TOLEDO, Adrián; CATILLO, Néstor; CARRILLO, Olimpia y ARENAL, Amilcar. Probióticos: una realidad en el cultivo de camarones. En: Revista de Producción Animal. 2018. vol. 30, no. 2, p. 57

TORTORA, G; FUNKE, B y CASE, C. Introducción a la microbiología. 9 ed. Buenos Aires, 2007., Citado por ORTEGA, Lorena y FUERTES, Karina. Op. cit., p. 57.

TOVAR, D., *et al.* Efecto de la administración de levaduras en el proceso de maduración del tracto digestivo de peces. En: Avances en Nutrición Acuícola V (19-22, noviembre: Yucatán, México). Memorias del V Symposium Internacional de Nutrición, 2000. p. 34.

VALENZUELA, Ricardo; MARTÍNEZ, Paula y AREVALO, John. Evaluación preliminar de un sistema de recirculación de aguas para un prototipo implementado

en la producción de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). En: Ingeniería y región. Abril, 2017. vol. 18, no. 2. p. 3.

VÁSQUEZ, M.; RONDÓN, I. y ESLAVA, P. Inmunoestimulantes en teleósteos: Probióticos, β -glucanos y LPS. En: Orinoquía. Junio, 2012. vol. 16, no. 1, p. 54.

VELA, Y.; CONTRERAS, M. y SUAREZ, L. Effect of probiotic microorganisms isolated from *Hypostomus plecostomus* in *Oreochromis sp* juveniles. En: Revista MVZ Córdoba. Enero, 2017. vol. 22, no. 1, p. 5695.

¹ Ibíd., p. 5695.

VERSCHUERE, *et al.* Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. En: Microbiology and Molecular Biology Review. 2000. vol. 64, no. 4, p. 655-671, Citados por ORTEGA, Lorena y FUERTES, Karina. Evaluación de bacterias con potencial probiótico en la alimentación de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Trabajo de grado Ingenieras en producción acuícola. Tumaco: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias. Departamento de Recursos Hidrobiológicos, 2015. 42 p.

VILLAMIL, Luisa y MARTÍNEZ, María Angélica. Probiotics as a biotechnological tool in shrimp culture: A review. En: Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR. 2009. vol. 38, no. 2, p. 169.

VILLARREAL, M.; VILLA, E.; CIRA, L. y ESTRADA, I. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. En: Revista mexicana de fitopatología. Enero, 2018. vol. 36, no. 1, p. 101.

VILLASEÑOR, Luis e IRASEMA, Elizabeth. Caracterización de microorganismos con potencial probiótico aislados del intestino del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y la glándula digestiva del ostión del placer *Crassostrea corteziensis*. Trabajo de grado de Master en ciencias. Sonora: Universidad de Sonora. Departamento de investigaciones científicas y tecnológicas, 2007. 7 p.

YUAN, Derun, *et al.* Effects of addition of red tilapia (*Oreochromis spp.*) at different densities and sizes on production, water quality and nutrient recovery of intensive culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in cement tanks. En: Aquaculture. Enero, 2010. vol. 298, no. 3, p. 233.

9. ANEXOS

Anexo A. Pesos iniciales promedio por tratamiento

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
0	40	0,61525 X	0,0377568	6,14%
1	40	0,562 X	0,0893624	15,90%
2	40	0,60475 X	0,0867649	14,35%
3	40	0,551 X	0,0961249	17,45%
4	40	0,53575 X	0,117099	21,86%
Total	200	0,57375 X	0,0936981	16,33%

X: Medias homogéneas

Anexo B. Análisis de Varianza (ANOVA) para peso inicial

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	1,74709	19 9	0,00877933		
Residuo	0,0	0			
Total (Corr.)	1,74709	19 9			

Suma de Cuadrados Tipo III para peso inicial (CAA).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón -F</i>	<i>Valor -P</i>
TRATAMIENTO	0,191315	4	0,0478287	0,50	0,736 3
RÉPLICA (TRATAMIENTO)	1,435	15	0,0956668		
INDIVIDUO (RÉPLICA TRATAMIENTO)	0,12077	180	0,000670944	0,01	1,000
Residuo	0,0	0			
Total (corregido)	1,74709	199			

Anexo C. Muestreo de peso por individuo semanal de cada tratamiento

T	N°	SIEMB RA	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
		Pe so (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)
T O R 1	1	0,58	0,58	0,69	1,18	1,41	1,92	2,04	2,54	3,4	4,33
	2	0,58	0,59	0,61	1,08	1,32	1,44	2,16	2,81	3,96	3,94
	3	0,57	0,65	0,68	0,97	1,54	1,52	1,81	2,55	3,61	4,29
	4	0,59	0,66	0,65	1,01	1,44	1,77	2,29	2,51	3,3	3,62
	5	0,63	0,69	0,67	0,91	1,61	1,75	1,87	2,25	3,57	3,93
	6	0,6	0,62	0,61	1,07	1,78	1,73	1,92	2,29	3,22	3,9
	7	0,57	0,62	0,73	1,01	1,35	1,5	1,87	2,34	3,13	4,09
	8	0,57	0,65	0,65	1,18	1,41	1,57	2,2	2,47	3,54	3,28
	9	0,6	0,56	0,61	1,05	1,43	1,59	2,2	2,11	3,32	4,25
	10	0,6	0,69	0,72	1,09	1,36	1,7	2,25	2,52	3,69	4,46
T O R 2	1	0,61	0,7	0,78	1,05	1,55	1,8	1,89	2,59	3,55	3,88
	2	0,66	0,62	0,71	1,17	1,31	1,75	2,04	2,69	3,61	3,91
	3	0,65	0,64	0,72	1,17	1,45	2,11	1,78	2,95	3,5	4,6
	4	0,55	0,56	0,68	1,14	1,45	1,95	1,81	3,3	3,86	4,41
	5	0,59	0,61	0,69	0,86	1,25	1,58	1,96	2,89	3,81	4,59
	6	0,6	0,71	0,69	1	1,27	1,95	1,8	2,6	3,58	3,38
	7	0,66	0,74	0,67	1	1,5	1,72	1,8	2,95	3,12	4,21
	8	0,62	0,72	0,65	1,13	1,29	1,92	2	3,17	3,26	4,43
	9	0,63	0,76	0,69	1,07	1,31	2,08	1,9	3,34	3,18	3,8
	10	0,58	0,72	0,74	1,04	1,2	1,73	1,88	2,94	3,54	3,81
T O R 3	1	0,6	0,64	0,75	1,08	1,49	1,97	2,24	2,39	3,43	3,91
	2	0,66	0,64	0,75	0,91	1,66	2	2,29	2,5	3,32	3,77
	3	0,62	0,68	0,69	1,06	1,46	2,06	1,96	2,78	3,69	3,3
	4	0,66	0,64	0,8	0,83	1,45	1,85	2,3	2,74	3,15	3,63
	5	0,67	0,69	0,71	1,03	1,34	1,84	1,84	2,4	3,65	3,41
	6	0,62	0,75	0,82	0,97	1,59	1,83	2	2,89	3,4	3,78
	7	0,69	0,6	0,71	0,99	1,41	1,66	2,25	2,46	3,37	3,71
	8	0,66	0,6	0,73	1,08	1,26	2,04	2,5	2,45	3,64	3,77
	9	0,62	0,69	0,8	1	1,62	1,75	2,12	2,24	3,51	3,69
	10	0,66	0,67	0,76	0,81	1,63	2,2	2,22	2,22	3,6	3,58
T O	1	0,56	0,6	0,65	1,03	1,6	1,65	2,46	3,18	4,19	3,8
	2	0,53	0,66	0,7	1,14	1,34	1,55	2,05	3,36	4,4	3,51
	3	0,65	0,65	0,62	1,09	1,21	1,35	2,18	3,42	3,82	3,69

R 4	4	0,66	0,74	0,71	1	1,55	1,34	2,28	2,61	4,32	3,36
	5	0,64	0,76	0,72	1,02	1,56	1,52	2,13	3,02	3,79	3,31
	6	0,59	0,71	0,73	1,16	1,26	1,36	2,4	2,9	4,43	3,92
	7	0,59	0,66	0,78	1	1,47	1,68	2,2	3,12	4,06	3,29
	8	0,61	0,58	0,74	1,09	1,39	1,62	1,85	2,67	3,83	3,5
	9	0,64	0,74	0,7	0,93	1,38	1,55	2,07	2,69	3,21	3,79
	10	0,64	0,6	0,76	0,86	1,34	1,54	1,98	2,76	3,54	3,64
T 1	1	0,56	0,46	0,6	0,62	1,04	1,77	1,81	2,31	2,88	3,45
	2	0,52	0,46	0,5	0,72	0,88	1,43	1,97	2,19	3	3,42
	3	0,48	0,49	0,58	0,68	1,02	1,57	1,62	2,28	3,4	3,34
	4	0,48	0,53	0,5	0,69	0,92	1,39	1,62	2,28	2,95	3,2
	5	0,5	0,52	0,52	0,65	0,88	1,76	1,78	2,1	2,82	3,22
	6	0,5	0,51	0,52	0,78	0,88	1,8	1,59	2	3,5	3,34
	7	0,46	0,51	0,6	0,7	0,97	1,5	1,52	2,36	3,45	3,63
R 1	8	0,53	0,53	0,5	0,65	0,81	1,7	1,95	2,24	2,82	3,2
	9	0,45	0,51	0,48	0,76	0,93	1,79	1,84	1,91	3	3,5
	10	0,52	0,52	0,49	0,68	0,94	1,7	1,69	1,85	2,9	3,2
T 1	1	0,65	0,79	0,84	1,25	1,69	2,15	2,74	3,73	4,14	4,69
	2	0,61	0,69	0,7	1,24	1,47	2,12	2,34	3,3	4,35	4,67
	3	0,6	0,68	0,8	1,13	1,53	1,92	3,13	3,29	4,37	4,83
	4	0,65	0,67	0,88	1,15	1,73	1,8	2,67	3,68	4,32	4,34
	5	0,6	0,68	0,76	1,14	1,68	1,77	2,86	3,75	4,12	4,43
	6	0,67	0,67	0,78	1,12	1,32	2,2	2,45	3,79	4,1	4,7
	7	0,66	0,72	0,85	1,12	1,45	2,15	2,68	3,69	3,97	4,3
R 2	8	0,62	0,78	0,72	1,3	1,62	1,81	2,5	3,67	4,5	4,76
	9	0,61	0,74	0,75	1,13	1,56	1,75	2,31	3,3	4,21	4,78
	10	0,63	0,76	0,86	1,13	1,42	2,17	2,9	3,47	3,77	4,1
T 1	1	0,48	0,53	0,62	0,79	1,36	1,64	1,55	2,65	2,66	2,92
	2	0,45	0,47	0,5	0,7	1,4	1,47	2	3	2,87	3,49
	3	0,45	0,48	0,6	0,97	1,04	1,78	1,75	2,7	2,98	3,33
	4	0,46	0,53	0,54	0,81	1,1	1,47	1,81	2,66	2,9	3,95
	5	0,45	0,48	0,53	0,85	1,13	1,61	1,58	2,68	3,12	3,31
	6	0,48	0,47	0,5	0,92	1,35	1,45	1,7	2,76	3	3,92
	7	0,47	0,48	0,52	0,91	1,3	1,68	1,95	3	2,68	3,76
R 3	8	0,46	0,49	0,57	0,88	1,25	1,75	1,85	2,37	3,32	3,19
	9	0,46	0,52	0,53	0,81	1,2	1,51	1,83	2,22	2,6	3,2
	10	0,45	0,5	0,6	0,87	1,27	1,8	1,72	2,41	2,6	3,22
T 1	1	0,63	0,7	1,09	1,54	2,45	2,45	4,41	3,83	4,2	4,16
	2	0,67	0,7	1,03	1,72	2,07	2,46	4,14	3,98	4,3	4,86

R 4	3	0,6	0,81	0,9	1,73	2	2,29	3,41	3,84	4,22	4,84
	4	0,65	0,82	0,93	1,94	2,5	2,79	4,1	3,83	4,52	4,21
	5	0,63	0,82	0,86	1,69	2,53	2,75	3,8	3,53	4,19	4,77
	6	0,65	0,71	0,98	1,6	2,24	2,71	3,64	3,3	4,52	4,41
	7	0,7	0,7	1,08	1,54	2,53	2,35	3,83	3,44	4,57	4,31
	8	0,74	0,81	0,96	1,8	2,52	2,84	3,76	3,29	4,27	4,69
	9	0,69	0,7	0,98	1,46	2,37	2,12	3,74	3,89	4,38	4,23
	10	0,61	0,73	1,12	1,48	2,16	2,46	3,67	3,88	4,7	4,41
	1	0,68	0,93	1,2	1,86	1,74	2,44	3,26	4,34	5,28	5,72
	2	0,65	0,91	1,21	1,53	1,84	2,41	2,85	4,75	4,26	5,63
T 2 R 1	3	0,74	0,8	1,12	1,75	2,07	2,56	3,22	5	5,09	5,34
	4	0,65	0,94	1,07	1,63	2,07	2,26	2,81	3,95	5,78	6,7
	5	0,67	0,93	1,06	1,87	1,94	2,41	2,97	4,34	4,95	6,64
	6	0,67	0,88	1,14	1,73	1,87	2,45	3,07	3,89	4,81	6,76
	7	0,65	0,79	1,2	1,71	1,99	2,47	3,57	4,2	4,86	5,85
	8	0,67	0,89	1,28	1,6	1,85	2,95	3,25	4,92	5,14	5,1
	9	0,67	0,93	1,06	1,9	2,33	2,18	2,68	4,49	4,7	5,75
	10	0,7	0,79	1	1,71	1,73	2,16	2,99	3,87	4,7	5,95
	1	0,48	0,53	0,83	1,13	1,36	1,97	2,3	3,02	4,35	4,25
	2	0,45	0,62	0,75	1,19	1,66	2,08	2,7	2,83	4,21	4,85
T 2 R 2	3	0,45	0,52	0,66	1,15	1,68	1,78	2,27	2,7	4,66	4,81
	4	0,44	0,57	0,71	1,11	1,4	1,71	2,56	2,74	4,2	4,56
	5	0,45	0,58	0,7	1,1	1,49	2,04	2,58	2,69	4,24	4,43
	6	0,49	0,62	0,67	1,17	1,34	1,76	2,35	3,22	4,27	4,85
	7	0,46	0,59	0,78	1,19	1,56	1,64	2,31	3	4,44	4,11
	8	0,47	0,63	0,83	1,18	1,66	1,81	2,47	2,6	3,98	4,91
	9	0,48	0,59	0,75	1,17	1,47	1,69	2,49	3,37	4,9	4,68
	10	0,48	0,59	0,7	1,16	1,3	1,7	2,5	2,96	4,5	4,93
	1	0,62	0,72	0,92	0,81	1,35	2,1	2,49	2,61	4,4	4,39
	2	0,64	0,65	0,78	0,76	1,46	2,1	1,99	2,91	3,68	4,27
T 2 R 3	3	0,66	0,64	0,78	0,87	1,55	2,2	2,35	3,35	3,84	3,9
	4	0,66	0,68	0,8	0,86	1,42	1,76	2,65	2,73	3,94	4,38
	5	0,67	0,62	0,78	0,85	1,46	2,1	2,21	3,25	3,46	4,2
	6	0,63	0,62	0,86	0,82	1,31	1,86	2,37	3,18	3,68	4,35
	7	0,66	0,64	0,75	0,98	1,37	1,7	2,2	3,51	4,52	4,96
	8	0,67	0,71	0,9	0,88	1,42	2,05	1,97	3,2	3,85	4,64
	9	0,64	0,6	0,76	0,79	1,58	1,81	2,28	3,51	3,89	4,14
	10	0,67	0,63	0,75	0,9	1,2	1,73	2,59	3	3,56	4,89
	1	0,69	0,79	0,91	1	1,34	2,02	2,3	3,1	4,45	4,74

T 2 R 4	2	0,64	0,73	0,76	0,82	1,47	1,72	2,49	2,7	3,88	4,04
	3	0,63	0,74	0,83	0,89	1,37	1,83	2,69	3,2	3,97	4,15
	4	0,64	0,69	0,78	0,99	1,49	2,12	2,69	2,95	3,45	4,18
	5	0,61	0,78	0,9	0,98	1,49	2,21	2,41	3,33	3,88	4,64
	6	0,6	0,8	0,89	0,87	1,47	2,18	2,49	3,03	3,99	4,47
	7	0,62	0,79	0,9	0,82	1,37	2,1	2,31	3,03	3,85	4,45
	8	0,66	0,68	0,76	0,81	1,35	2,05	2,7	2,86	4,5	4,28
	9	0,59	0,69	0,74	1	1,65	1,91	2,35	2,75	3,96	4,31
	10	0,59	0,69	0,79	0,8	1,67	2,13	2,35	3,51	3,57	4,61
	1	0,42	0,5	0,55	0,6	0,95	1,15	1,68	1,83	3,1	3,94
T 3 R 1	2	0,46	0,51	0,51	0,7	1,04	1,07	1,43	2,28	3,28	3,35
	3	0,45	0,51	0,64	0,61	1,1	1,15	1,29	2	3,07	3,64
	4	0,4	0,56	0,5	0,6	1,03	1,31	1,48	1,96	3,46	3,72
	5	0,43	0,5	0,55	0,62	0,88	1,04	1,51	1,73	3,63	3,37
	6	0,4	0,46	0,57	0,67	0,82	1,12	1,61	2,07	2,98	3,35
	7	0,43	0,47	0,52	0,55	0,85	1,35	1,58	2,08	3,32	3,89
	8	0,43	0,45	0,62	0,67	0,89	1,33	1,67	1,71	3,57	3,52
	9	0,4	0,51	0,55	0,61	1	1,05	1,54	1,71	3,09	3,66
	10	0,41	0,49	0,56	0,5	0,95	1,2	1,45	1,8	3,73	3,63
	1	0,51	0,56	0,75	0,75	1,51	1,36	1,34	2,38	3,88	3,21
T 3 R 2	2	0,52	0,56	0,74	0,72	1,37	1,54	1,74	2,32	3,94	3,31
	3	0,53	0,52	0,88	0,79	1,48	1,37	1,57	2,25	3,77	2,9
	4	0,48	0,59	0,86	0,82	1,28	1,3	1,7	2,45	3,91	3,21
	5	0,49	0,58	0,73	0,82	1,13	1,35	1,85	2,24	3,93	2,6
	6	0,51	0,59	0,89	0,74	1,23	1,49	1,6	2,17	3,09	3,16
	7	0,49	0,52	0,78	0,7	1,5	1,46	1,71	2,21	3,96	3,5
	8	0,53	0,6	0,82	0,75	1,41	1,44	1,59	2,71	3,4	2,96
	9	0,48	0,54	0,78	0,73	1,27	1,42	1,81	2,64	3,32	2,94
	10	0,53	0,5	0,71	0,75	1,44	1,54	1,69	2,78	3,45	3,25
	1	0,65	0,86	0,85	1,28	1,77	1,9	2,44	2,89	3,48	4,74
T 3 R 3	2	0,61	0,73	0,83	1,32	1,38	1,84	2,67	3,03	3,93	5,16
	3	0,6	0,76	0,86	1,19	1,65	1,74	2,12	2,98	4,36	4,97
	4	0,62	0,81	0,82	1,09	1,36	1,92	2,41	2,63	3,81	5,5
	5	0,62	0,74	0,84	1,01	1,52	1,53	2,53	3,53	4,44	4,69
	6	0,58	0,71	0,97	1,17	1,62	1,85	2,53	2,96	3,65	4,95
	7	0,58	0,73	0,96	0,99	1,65	1,46	2,48	2,9	3,72	4,56
	8	0,62	0,89	0,88	1,23	1,6	1,6	2,3	2,68	3,96	4,97
	9	0,65	0,79	0,86	1,08	1,79	1,8	2,19	3,14	3,88	4,84
	10	0,6	0,68	0,92	1,1	1,6	1,84	1,97	2,48	3,92	4,84

T 3 R 4	1	0,64	0,84	0,85	0,9	1,82	2,1	2,87	3,78	4,28	4,78
	2	0,63	0,8	0,87	1,07	2,02	2,56	2,95	3,47	4,53	4,17
	3	0,68	0,81	0,89	1,02	1,93	2,42	2,84	3,72	3,87	4,3
	4	0,65	0,87	0,78	0,97	1,76	2,48	2,7	3,56	4,14	4,6
	5	0,7	0,76	0,8	1,15	2,2	2,42	2,76	3,26	3,9	4,33
	6	0,69	0,86	0,89	0,97	1,7	2,41	2,87	3,99	4,26	4,48
	7	0,65	0,76	0,8	1,13	1,67	2,13	2,28	3,93	4,05	4,56
	8	0,66	0,87	0,77	1	1,78	2,67	2,9	3,03	3,95	4,2
	9	0,65	0,87	0,89	0,98	1,74	2,67	2,8	3,58	4,1	4,68
	10	0,66	0,88	0,87	0,91	1,95	2,2	2,84	3,5	4,3	4,67
T 4 R 1	1	0,69	0,75	1,11	1,12	1,9	2,14	2,5	3,98	3,8	4,02
	2	0,68	0,72	1,03	1,39	1,74	2,19	2,84	3,48	3,97	4,56
	3	0,69	0,87	0,96	1,32	1,59	2,52	2,77	3,72	4,47	4,32
	4	0,67	0,74	1,14	1,33	1,59	1,92	3,12	3,83	3,8	3,98
	5	0,67	0,68	1	1,23	2,04	1,98	2,62	3,27	3,75	4,09
	6	0,68	0,88	1,25	1,38	2	1,87	3,02	3,3	3,67	3,23
	7	0,68	0,84	1,08	1,1	1,65	2	3,12	3,05	4,05	3,83
	8	0,66	0,72	1,08	1,31	1,74	2,28	2,86	3,75	3,82	4,5
	9	0,64	0,74	1,05	1,36	1,94	2,29	2,31	3,31	3,95	4,24
	10	0,68	0,71	1,08	1,32	1,76	2,03	2,63	3,52	4,02	4,24
T 4 R 2	1	0,43	0,57	0,5	0,73	0,96	1,69	2,08	2,48	3,22	4,52
	2	0,42	0,49	0,58	0,66	0,88	1,48	1,91	2,86	3,43	4,5
	3	0,42	0,57	0,5	0,6	1	1,4	2,2	2,89	3,81	4,06
	4	0,44	0,54	0,52	0,74	0,87	1,55	2,24	2,22	3,67	4,07
	5	0,44	0,54	0,6	0,69	0,86	1,5	2,02	2,59	3,36	3,99
	6	0,44	0,47	0,5	0,58	1,12	1,16	1,8	2,97	2,9	3,97
	7	0,44	0,61	0,61	0,69	0,86	1,72	1,84	2,41	2,94	3,78
	8	0,44	0,51	0,54	0,63	0,87	1,5	1,92	2,44	3,33	4,02
	9	0,42	0,47	0,56	0,6	0,87	1,47	1,94	2,92	3,13	4,12
	10	0,42	0,5	0,53	0,61	0,96	1,45	1,67	2,88	3,11	3,9
T 4 R 3	1	0,65	0,68	0,82	0,85	1,3	1,82	2,23	2,84	3,82	3,16
	2	0,6	0,69	0,72	0,79	1,44	1,7	2,22	2,64	3,59	3,32
	3	0,63	0,87	0,75	0,8	1,37	1,76	2,54	2,6	3,72	3,68
	4	0,6	0,71	0,75	0,89	1,26	1,98	2,23	2,73	3,6	3,63
	5	0,63	0,87	0,76	0,83	1,47	1,87	2,19	2,76	4,08	3,61
	6	0,64	0,76	0,87	0,95	1,47	1,87	2,24	2,83	3,5	3,6
	7	0,65	0,72	0,87	0,79	1,42	1,93	2,67	2,79	3,67	3,06
	8	0,62	0,85	0,76	0,8	1,7	1,82	2,5	2,68	3,11	3,98
	9	0,61	0,78	0,8	0,81	1,43	1,73	2,21	2,99	3,93	3,01

	10	0,61	0,8	0,68	0,89	1,33	1,95	2,76	2,98	3,65	3,05
	1	0,43	0,53	0,54	0,71	0,73	0,92	1,27	2,16	3,4	3,74
	2	0,4	0,52	0,55	0,55	0,76	1,02	1,27	2,25	4,09	3,24
	3	0,43	0,49	0,55	0,63	0,78	1	1,43	2,42	3,64	3,51
T	4	0,42	0,51	0,59	0,55	0,81	0,97	1,5	2,27	3,28	3,17
4	5	0,4	0,52	0,55	0,61	0,94	0,89	1,14	2,34	3,27	3,16
R	6	0,42	0,5	0,61	0,59	0,7	0,81	1,39	2,11	4,03	3,35
4	7	0,4	0,5	0,56	0,55	0,8	1,09	1,39	2,18	3,41	3,36
	8	0,41	0,48	0,61	0,57	0,7	0,91	1,3	2,28	3,3	3,63
	9	0,4	0,5	0,57	0,56	0,78	1	1,56	2,29	3,24	3,78
	10	0,43	0,45	0,62	0,55	0,67	1,1	1,37	2,94	3,33	2,84

Anexo D. Peso promedio semanal por tratamiento (g)

TRATAMIENTO	SEMANA									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
T₀	0,615	0,660	0,707	1,032	1,431	1,736	2,070	2,715	3,603	3,837
T₁	0,562	0,617	0,717	1,091	1,513	1,941	2,505	3,011	3,629	3,957
T₂	0,605	0,713	0,877	1,158	1,579	2,054	2,577	3,365	4,291	4,845
T₃	0,551	0,664	0,768	0,882	1,441	1,690	2,082	2,709	3,760	4,028
T₄	0,536	0,641	0,744	0,842	1,227	1,607	2,121	2,824	3,597	3,746

Anexo E. Incremento de peso promedio por tratamiento (g)

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
T ₀	4	3,2215	0,269754	8,37%
T ₁	4	3,395	0,564667	16,63%
T ₂	4	4,2405	0,712771	16,81%
T ₃	4	3,4765	0,745518	21,44%
T ₄	4	3,20975	0,404839	12,61%
Total	20	3,50865	0,638397	18,19%

Anexo F. Tasa de crecimiento Simple

TRATAMIENTO	RÉPLICA	MUESTREO	PESO	TCS
0	1	1	5,89	
0	1	2	6,31	0,009839
0	1	3	6,62	0,006851
0	1	4	10,55	0,066575
0	1	5	14,65	0,046902
0	1	6	16,49	0,016901
0	1	7	20,61	0,03186
0	1	8	24,39	0,024056
0	1	9	34,74	0,050531
0	1	10	40,09	0,020462
0	2	1	6,15	
0	2	2	6,78	0,013932
0	2	3	7,02	0,004969
0	2	4	10,63	0,059273
0	2	5	13,58	0,034988
0	2	6	18,59	0,04486
0	2	7	18,86	0,002059
0	2	8	29,42	0,063518
0	2	9	35,01	0,024851
0	2	10	41,02	0,022632
0	3	1	6,46	
0	3	2	6,6	0,003062
0	3	3	7,52	0,018642
0	3	4	9,76	0,037246
0	3	5	14,91	0,060534
0	3	6	19,2	0,036125
0	3	7	21,72	0,017617
0	3	8	25,07	0,020491
0	3	9	34,76	0,046685
0	3	10	36,55	0,007173
0	4	1	6,11	
0	4	2	6,7	0,013168
0	4	3	7,11	0,008484
0	4	4	10,32	0,053225
0	4	5	14,1	0,044584
0	4	6	15,16	0,010355
0	4	7	21,6	0,050576

0	4	8	29,73	0,045637
0	4	9	39,59	0,040917
0	4	10	35,81	-0,01433
1	1	1	5	
1	1	2	5,04	0,00113831
1	1	3	5,29	0,006916
1	1	4	6,93	0,038577
1	1	5	9,27	0,04156
1	1	6	16,41	0,081586
1	1	7	17,39	0,008286
1	1	8	21,52	0,030441
1	1	9	30,72	0,050847
1	1	10	33,5	0,012375
1	2	1	6,3	
1	2	2	7,18	0,018678
1	2	3	7,94	0,014373
1	2	4	11,71	0,055504
1	2	5	15,47	0,039779
1	2	6	19,84	0,035542
1	2	7	26,58	0,041779
1	2	8	35,67	0,042021
1	2	9	41,85	0,022825
1	2	10	45,6	0,012259
1	3	1	4,61	
1	3	2	4,95	0,010165
1	3	3	5,51	0,015311
1	3	4	8,51	0,062096
1	3	5	12,4	0,053779
1	3	6	16,16	0,037834
1	3	7	17,74	0,013326
1	3	8	26,45	0,057062
1	3	9	28,73	0,011812
1	3	10	34,29	0,025273
1	4	1	6,57	
1	4	2	7,5	0,018912
1	4	3	9,93	0,040093
1	4	4	16,5	0,072542
1	4	5	23,37	0,049727
1	4	6	25,22	0,010883

1	4	7	38,5	0,060431
1	4	8	36,81	-0,00641
1	4	9	43,87	0,025065
1	4	10	44,89	0,003283
2	1	1	6,75	
2	1	2	8,79	0,037724
2	1	3	11,34	0,036388
2	1	4	17,28	0,060173
2	1	5	19,43	0,016752
2	1	6	24,29	0,031892
2	1	7	30,67	0,033317
2	1	8	43,75	0,050743
2	1	9	49,57	0,017842
2	1	10	59,44	0,02594
2	2	1	4,65	
2	2	2	5,84	0,032551
2	2	3	7,38	0,033434
2	2	4	11,55	0,063987
2	2	5	14,92	0,036573
2	2	6	18,18	0,028231
2	2	7	24,53	0,042796
2	2	8	29,13	0,024553
2	2	9	43,75	0,058103
2	2	10	46,38	0,008339
2	3	1	6,52	
2	3	2	6,51	-0,00021
2	3	3	8,08	0,030864
2	3	4	8,52	0,007574
2	3	5	14,12	0,072167
2	3	6	19,41	0,045456
2	3	7	23,1	0,024863
2	3	8	31,25	0,043169
2	3	9	38,82	0,030988
2	3	10	44,12	0,018282
2	4	1	6,27	
2	4	2	7,38	0,023285
2	4	3	8,26	0,016092
2	4	4	8,98	0,011939
2	4	5	14,67	0,070114

2	4	6	20,27	0,046191
2	4	7	24,78	0,028699
2	4	8	30,46	0,029482
2	4	9	39,5	0,037126
2	4	10	43,87	0,01499
3	1	1	4,23	
3	1	2	4,96	0,022743
3	1	3	5,57	0,016569
3	1	4	6,13	0,013685
3	1	5	9,51	0,062735
3	1	6	11,77	0,030458
3	1	7	15,24	0,036909
3	1	8	19,17	0,032774
3	1	9	33,23	0,078586
3	1	10	36,07	0,011715
3	2	1	5,07	
3	2	2	5,56	0,013179
3	2	3	7,94	0,050902
3	2	4	7,57	-0,00681
3	2	5	13,62	0,083906
3	2	6	14,27	0,00666
3	2	7	16,6	0,021606
3	2	8	24,15	0,053554
3	2	9	36,65	0,059589
3	2	10	31,04	0,023733
3	3	1	6,13	
3	3	2	7,7	0,032575
3	3	3	8,79	0,018913
3	3	4	11,46	0,037892
3	3	5	15,94	0,047138
3	3	6	17,48	0,013175
3	3	7	23,64	0,043126
3	3	8	29,22	0,030273
3	3	9	39,15	0,041792
3	3	10	49,22	0,032699
3	4	1	6,61	
3	4	2	8,32	0,032868
3	4	3	8,41	0,001537
3	4	4	10,1	0,026159

3	4	5	18,57	0,087001
3	4	6	24,06	0,037
3	4	7	27,81	0,020692
3	4	8	35,82	0,036158
3	4	9	41,38	0,020613
3	4	10	44,77	0,011248
4	1	1	6,74	
4	1	2	7,65	0,018092
4	1	3	10,78	0,048998
4	1	4	12,86	0,025204
4	1	5	17,95	0,047638
4	1	6	21,22	0,023907
4	1	7	27,79	0,038533
4	1	8	35,21	0,033807
4	1	9	39,3	0,015699
4	1	10	41,01	0,006084
4	2	1	4,31	
4	2	2	5,27	0,028727
4	2	3	5,44	0,004535
4	2	4	6,53	0,026089
4	2	5	9,25	0,049745
4	2	6	14,92	0,068297
4	2	7	19,62	0,03912
4	2	8	26,66	0,043802
4	2	9	32,9	0,030044
4	2	10	40,93	0,031198
4	3	1	6,24	
4	3	2	7,73	0,030589
4	3	3	7,78	0,000921
4	3	4	8,4	0,010953
4	3	5	14,19	0,0749
4	3	6	18,43	0,037348
4	3	7	23,79	0,036469
4	3	8	27,84	0,022458
4	3	9	36,67	0,039355
4	3	10	34,1	-0,01038
4	4	1	4,14	
4	4	2	5	0,026963
4	4	3	5,75	0,019965

4	4	4	5,87	0,00295
4	4	5	7,67	0,038208
4	4	6	9,71	0,033691
4	4	7	13,62	0,04834
4	4	8	23,24	0,076333
4	4	9	34,99	0,058455
4	4	10	33,78	-0,00502

Anexo G. Análisis de Varianza (ANOVA) para incremento de peso mediante el modelo de Tasa de crecimiento simple para peso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0.0772789	179	0.000431726		
Residuo	0.0	0			
Total (Corr.)	0.0772789	179			

Suma de Cuadrados Tipo III para incremento de peso mediante el modelo de Tasa de crecimiento simple para peso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
TRATAMIENTO	0.000300069	4	0.0000750173	1.23	0.3386
RÉPLICA (TRATAMIENTO)	0.000912514	15	0.0000608343		
MUESTREO (RÉPLICA TRATAMIENTO)	0.0760663	160	0.000475415	7.81	0.0000
Residuo	0.0	0			
Total (corregido)	0.0772789	179			

Anexo H. Tasa de crecimiento simple promedio de peso por tratamiento

TRATAMIENTO	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
0	0.029035 X	0.0205528	70.7861%
1	0.0309912 X	0.0217936	70.3217%
2	0.0330671 X	0.0174153	52.6663%
3	0.0315526 X	0.0238638	75.6317%
4	0.0311673 X	0.0207183	66.4744%
Promedio	0.0311627 X	0.020778	66.676%

X Medias homogéneas

Anexo I. Porcentaje de Supervivencia por tratamiento

	Número de animales inicial	Número de animales final	Mortalidad	Supervivencia (%)	Desviación Estándar (DE)	Coficien te de variación (CV) (%)
TO	128	104	24	81,25	2,94	11,32
T1	128	96	32	75	1,83	7,61
T2	128	99	29	77,34	1,50	6,06
T3	128	102	26	79,69	3,87	15,19
T4	128	104	24	81,25	2,71	10,42
			Promedio	78,91		

Anexo J. Supervivencia prueba de Brand-Snedecor

Respuesta	Tratamientos				
	T0	T1	T2	T3	T4
Éxito	104	96	99	102	104
Fracaso	24	32	29	26	24
Total	128.00	128.00	128.00	128.00	128.00
Pi	0.813	0.750	0.773	0.797	0.813
Pi*ai	84.500	72.000	76.570	81.281	84.500

n =	5
n - 1 =	4
Alfa =	0.05
1 - alfa =	0.95
p =	0.789
q = (1 - p) =	0.211

$$X^2 C = \frac{[\sum a_i \cdot p_i] - [p \cdot \sum a_i]}{pq}$$

$$X^2 C = 2.253 \quad X^2 t_{(1-\alpha)} = 11.14$$

Decisión: No existen diferencias estadísticas significativas

Anexo K. Cálculo de Biomasa y consumo de alimento semanal

		N° inicial de animales	Siembra		Semana 1			Semana 2			Semana 3			Semana 4			Semana 5			Semana 6			Semana 7			Semana 8			Semana 9		
		32	peso (g)		mortalidad	número de animales	peso promedio	mortalidad	número de animales	peso promedio	mortalidad	número de animales	peso promedio	mortalidad	número de animales	peso promedio	mortalidad	número de animales	peso promedio	mortalidad	número de animales	peso promedio	mortalidad	número de animales	peso promedio	mortalidad	número de animales	peso promedio			
T O R 1	PROMEDIO	0,589	2	30	0,631	0	30	0,662	1	29	1,055	0	29	1,465	0	29	1,649	1	28	2,061	0	28	2,439	0	28	3,474	0	28	4,009		
	Biomasa 10%	18,848			18,93			19,86			30,595			42,485			47,821			57,708			68,292			97,272			112,252		
	Ración (g)	1,88			1,89			1,99			3,06			4,25			4,78			5,77			6,83			9,73			0		
	6 comidas	0,31			0,32			0,33			0,51			0,71			0,8			0,96			1,14			1,62			0		
T O R 2	PROMEDIO	0,615	1	31	0,678	0	31	0,702	2	29	1,063	2	27	1,358	1	26	1,859	0	26	1,886	0	26	2,942	1	25	3,501	2	23	4,102		
	Biomasa 10%	19,68			21,018			21,762			30,827			36,666			48,334			49,036			76,492			87,525			94,346		
	Ración (g)	1,97			2,10			2,18			3,08			3,67			4,83			4,90			7,65			8,75			0		
	6 comidas	0,328			0,35			0,36			0,51			0,61			0,81			0,82			1,27			1,46			0		
T O R 3	PROMEDIO	0,646	0	32	0,66	0	32	0,752	1	31	0,976	0	31	1,49	2	29	1,92	0	29	2,172	0	29	2,507	0	29	3,476	0	29	3,655		
	Biomasa 10%	20,672			21,12			24,064			30,256			46,221			55,68			62,988			72,703			100,804			105,995		
	Ración (g)	2,07			2,11			2,41			3,03			4,62			5,57			6,30			7,27			10,08			0		
	6 comidas	0,34			0,35			0,40			0,5			0,77			0,93			1,05			1,21			1,68			0		

T0 R 4	PROMEDIO	0,611	1	31	0,6 7	0	31	0,71 1	2	29	1,03 2	2	27	1,41	0	27	1,51 6	1	26	2,16	1	25	2,97 3	1	24	3,95 9	0	24	3,58 1
	Biomasa 10%	19,552			20, 77			22,0 41			29,9 28			38,0 7			40,9 32			56,1 6			74,3 25			95,0 16			85,9 44
	Ración (g)	1,96			2, 08			2,2 0			2,9 9			3,81			4,0 9			5,62			7,4 3			9,5			0
	6 comidas	0,33			0, 35			0,3 7			0,5			0,63			0,6 8			0,94			1,2 4			1,58			0
T1 R 1	PROMEDIO	0,5	0	32	0,5 04	0	32	0,52 9	3	29	0,69 3	1	28	0,92 7	2	26	1,64 1	0	26	1,73 9	0	25	2,15 2	1	24	3,07 2	1	23	3,35
	Biomasa 10%	16			16, 12 8			16,9 28			20,0 97			25,9 56			42,6 66			45,2 14			53,8			73,7 28			77,0 5
	Ración (g)	1,6			1, 61			1,6 9			2,0 1			2,60			4,3			4,52			5,3 8			7,37			0
	6 comidas	0,27			0, 27			0,2 8			0,3 3			0,43			0,7 1			0,75			0,9			1,23			0
T1 R 2	PROMEDIO	0,63	1	31	0,7 18	0	31	0,79 4	1	30	1,17 1	2	28	1,54 7	0	28	1,98 4	1	27	2,65 8	1	26	3,56 7	1	25	4,18 5	0	25	4,56
	Biomasa 10%	20,16			22, 25 8			24,6 14			35,1 3			43,3 16			55,5 52			71,7 66			92,7 42			104, 625			114
	Ración (g)	2,02			2, 23			2,4 6			3,5 1			4,33			5,5 6			7,18			9,2 7			10,4 6			0
	6 comidas	0,336			0, 37			0,4 1			0,5 9			0,72			0,9 3			1,2			1,5 5			1,74			0
T1 R 3	PROMEDIO	0,461	1	31	0,4 95	0	31	0,55 1	3	28	0,85 1	2	26	1,24	1	25	1,61 6	1	24	1,77 4	0	24	2,64 5	0	24	2,87 3	2	22	3,42 9
	Biomasa 10%	14,752			15, 34 5			17,0 81			23,8 28			32,2 4			40,4			42,5 76			63,4 8			68,9 52			75,4 38
	Ración (g)	1,48			1, 53			1,7 1			2,3 8			3,22			4,0 4			4,26			6,3 5			6,90			0
	6 comidas	0,25			0, 26			0,2 8			0,4			0,54			0,6 7			0,71			1,0 6			1,15			0
	PROMEDIO	0,657	0	32	0,7 5	1	31	0,99 3	0	31	1,65	2	29	2,33 7	0	29	2,52 2	0	29	3,85	0	29	3,68 1	2	27	4,38 7	1	26	4,48 9

T1 R 4	Biomasa 10%	21,024			24			30,7 83			51,1 5			67,7 73			73,1 38			111, 65			106, 749			118, 449			116, 714
	Ración (g)	2,10			2, 4			3,0 8			5,1 2			6,78			7,3 1			11,1 7			10, 67			11,8 4			0
	6 comidas	0,35			0, 4			0,5 1			0,8 5			1,13			1,2 2			1,86			1,7 8			1,97			0
T2 R 1	PROMEDIO	0,675	2	30	0,8 79	0	30	1,13 4	1	29	1,72 8	0	29	1,94 3	1	28	2,42 9	0	28	3,06 7	1	27	4,37 5	1	26	4,95 7	0	26	5,94 4
	Biomasa 10%	21,6			26, 37			34,0 2			50,1 12			56,3 47			68,0 12			85,8 76			118, 125			128, 882			154, 544
	Ración (g)	2,16			2, 64			3,4			5,0 1			5,63			6,8 0			8,59			11, 81			12,8 9			0
T2 R 2	6 comidas	0,36			0, 44			0,5 7			0,8 4			0,94			1,1 3			1,43			1,9 7			2,15			0
	PROMEDIO	0,465	1	31	0,5 84	1	30	0,73 8	1	29	1,15 5	0	29	1,49 2	2	27	1,81 8	1	26	2,45 3	1	25	2,91 3	1	24	4,37 5	1	23	4,63 8
	Biomasa 10%	14,88			18, 10 4			22,1 4			33,4 95			43,2 68			49,0 86			63,7 78			72,8 25			105			106, 674
T2 R 3	Ración (g)	1,49			1, 81			2,2 1			3,3 5			4,33			4,9 1			6,38			7,2 8			10,5 0			0
	6 comidas	0,25			0, 3			0,3 7			0,5 6			0,72			0,8 2			1,06			1,2 1			1,75			0
	PROMEDIO	0,652	1	31	0,6 51	0	31	0,80 8	1	30	0,85 2	0	30	1,41 2	2	28	1,94 1	2	26	2,31	1	25	3,12 5	0	25	3,88 2	1	24	4,41 2
T2 R 4	Biomasa 10%	20,864			20, 18 1			25,0 48			25,5 6			42,3 6			54,3 48			60,0 6			78,1 25			97,0 5			105, 888
	Ración (g)	2,09			2, 02			2,5 0			2,5 6			4,24			5,4 3			6,01			7,8 1			9,71			0
	6 comidas	0,35			0, 34			0,4 2			0,4 3			0,71			0,9 1			1			1,3			1,62			0
T2 R 4	PROMEDIO	0,627	0	32	0,7 38	0	32	0,82 6	1	31	0,89 8	1	30	1,46 7	0	30	2,02 7	2	28	2,47 8	0	28	3,04 6	0	28	3,95	2	26	4,38 7
	Biomasa 10%	20,064			23, 61 6			26,4 32			27,8 38			44,0 1			60,8 1			69,3 84			85,2 88			110, 6			114, 062

	Ración (g)	2,01			2,36			2,64			2,78			4,4			6,08			6,94			8,53			11,06			0
	6 comidas	0,33			0,39			0,44			0,46			0,73			1,01			1,16			1,42			1,84			0
T3 R 1	PROMEDIO	0,423	1	31	0,496	1	30	0,557	1	29	0,613	1	28	0,951	2	26	1,177	2	24	1,524	1	23	1,917	0	23	3,323	1	22	3,607
	Biomasa 10%	13,536			15,376			16,71			17,777			26,628			30,602			36,576			44,091			76,429			79,354
	Ración (g)	1,35			1,54			1,67			1,78			2,66			3,06			3,66			4,41			7,64			0
	6 comidas	0,23			0,26			0,28			0,3			0,44			0,51			0,61			0,73			1,27			0
T3 R 2	PROMEDIO	0,507	0	32	0,556	0	32	0,794	0	32	0,757	3	29	1,362	0	29	1,427	1	28	1,66	0	28	2,415	3	25	3,665	0	25	3,104
	Biomasa 10%	16,224			17,792			25,408			24,224			39,498			41,383			46,48			67,62			91,625			77,6
	Ración (g)	1,62			1,78			2,54			2,42			3,95			4,14			4,65			6,76			9,16			0
	6 comidas	0,27			0,3			0,42			0,4			0,66			0,69			0,77			1,13			1,53			0
T3 R 3	PROMEDIO	0,613	0	32	0,77	0	32	0,879	3	29	1,146	1	28	1,594	0	28	1,748	3	25	2,364	1	24	2,922	0	24	3,915	0	24	4,922
	Biomasa 10%	19,616			24,64			28,128			33,234			44,632			48,944			59,1			70,128			93,96			118,128
	Ración (g)	1,96			2,46			2,81			3,32			4,46			4,89			5,91			7,01			9,40			0
	6 comidas	0,33			0,41			0,47			0,55			0,74			0,82			0,99			1,17			1,57			0
T3 R 4	PROMEDIO	0,661	1	31	0,832	0	31	0,841	0	31	1,01	0	31	1,857	0	31	2,406	0	31	2,781	0	31	3,582	0	31	4,138	0	31	4,477
	Biomasa 10%	21,152			25,792			26,071			31,31			57,567			74,586			86,211			111,042			128,278			138,787
	Ración (g)	2,12			2,58			2,61			3,13			5,76			7,46			8,62			11,10			12,83			0

	6 comidas	0,35			0,43			0,43			0,52			0,96			1,24			1,44			1,85			2,14			0
T4 R 1	PROMEDIO	0,674	0	32	0,765	1	31	1,078	0	31	1,286	1	30	1,795	0	30	2,122	0	30	2,779	0	30	3,521	0	30	3,93	0	30	4,101
	Biomasa 10%	21,568			24,48			33,418			39,866			53,85			63,66			83,37			105,63			117,9			123,03
	Ración (g)	2,16			2,45			3,34			3,99			5,39			6,37			8,34			10,56			11,79			0
	6 comidas	0,36			0,41			0,56			0,66			0,9			1,06			1,39			1,76			1,97			0
T4 R 2	PROMEDIO	0,431	1	31	0,527	0	31	0,544	1	30	0,653	2	29	0,925	0	29	1,492	3	26	1,962	0	26	2,666	1	25	3,29	1	24	4,093
	Biomasa 10%	13,792			16,337			16,864			19,59			26,825			43,268			51,012			69,316			82,25			98,232
	Ración (g)	1,38			1,63			1,69			1,96			2,68			4,33			5,10			6,93			8,23			0
	6 comidas	0,23			0,27			0,28			0,33			0,45			0,72			0,85			1,16			1,37			0
T4 R 3	PROMEDIO	0,624	1	31	0,773	0	31	0,778	0	31	0,84	2	29	1,419	1	28	1,843	0	28	2,379	1	27	2,784	2	25	3,667	0	25	3,41
	Biomasa 10%	19,968			23,963			24,118			26,04			41,151			51,604			66,612			75,168			91,675			85,25
	Ración (g)	2,00			2,40			2,41			2,60			4,12			5,16			6,66			7,52			9,17			0
	6 comidas	0,33			0,4			0,40			0,43			0,69			0,86			1,11			1,25			1,53			0
T4 R 4	PROMEDIO	0,414	2	30	0,51	1	29	0,575	0	29	0,587	0	29	0,767	1	28	0,971	2	26	1,362	1	25	2,324	0	25	3,499	0	25	3,378
	Biomasa 10%	13,248			15			16,675			17,023			22,243			27,188			35,412			58,1			87,475			84,45
	Ración (g)	1,32			1,5			1,67			1,70			2,22			2,72			3,54			5,81			8,75			0
	6 comidas	0,22			0,25			0,28			0,28			0,37			0,45			0,59			0,97			1,46			0

Anexo L. Conversión Alimenticia Aparente Total por tratamiento (CAA)

TRATAMIENTOS	BIOMASA INICIAL (Kg)	BIOMASA FINAL (Kg)	SUMINISTRO DE ALIMENTO (Kg)	CAA
T ₀	0,079	0,399	1,137	3,556
T ₁	0,072	0,383	1,387	4,455
T ₂	0,077	0,481	1,332	3,301
T ₃	0,071	0,414	1,143	3,328
T ₄	0,069	0,391	1,111	3,446

Anexo M. Conversión Alimenticia Aparente (CAA) promedio por tratamiento

TRATAMIENTO	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
0	3,60718 X	0,48	13,33%
1	4,58928 X	1,42	30,86%
2	3,32527 X	0,19	5,78%
3	3,38054 X	0,59	17,39%
4	3,46369 X	0,77	22,13%
Total	3,67319 X	0,86	23,37%

X Medias homogéneas

Anexo N. Prueba de Kruskal-Wallis para CAA por tratamiento

TRATAMIENTO	Tamaño Muestra	Rango Promedio
0	4	11,5
1	4	16,25
2	4	8,0
3	4	8,0
4	4	8,75

Estadístico = 5,67143

Valor-P = 0,225067

Anexo O. Temperatura durante el periodo de estudio

Días	TRATAMIENTO				
	T ₀ R ₁	T ₁ R ₁	T ₂ R ₁	T ₃ R ₁	T ₄ R ₁
1	25.55	24.35	24.15	24.15	26.15
2	25.6	24.8	24.8	24.85	26.2
3	25.7	25	25.05	25	26.15
4	26.05	25.55	25.8	25.6	26.5
5	26.45	25.95	26.15	25.95	26.85
6	26.3	25.95	25.9	25.75	26.6
7	26.15	25.5	25.7	25.4	26.45
8	26.55	26.45	26.15	26.15	26.75
9	26.65	26.2	26.25	25.7	26.75
10	26.5	26.1	26.1	26.05	26.6
11	27.2	26.45	26.45	26.5	27.2
12	27.85	26.85	26.8	26.75	27.85
13	27.6	26.95	26.95	26.85	27.6
14	27.7	27.35	27.35	27.4	28.05
15	25	21.7	21.7	21.75	24.95
16	26.5	25.15	25.65	25.7	26.4
17	26.9	26.1	26.25	26.4	26.85
18	26.05	26.7	26.9	26.85	26.15
19	25.45	26.45	26.4	26.45	25.45
20	24.8	26	26.15	26.2	24.85
21	27.15	26.3	26.3	26.15	27.1
22	27.65	26.65	26.65	26.55	27.65
23	27.65	26.75	26.95	26.9	27.65
24	27.7	27.35	27.4	27.35	27.1
25	27.45	27.25	27.5	27.6	27.45
26	27.4	27.35	27.55	27.4	27.35
27	27.6	26.95	27.05	27.15	27.45
28	26.9	26.45	26.8	26.85	26.85
29	26.4	26.15	26.4	26.35	26.4
30	26.6	26.05	26.2	26.2	26.5
31	27.65	27.55	27.45	27.55	27.65
32	27.4	27.2	27.25	27.25	27.55
33	27.65	27.45	27.8	27.8	27.75
34	26.35	27.45	27.1	27.4	26.7
35	26.5	27.95	27.85	27.8	26.8

36	25.45	26.05	26.25	26.15	25.55
37	27.05	26.55	26.65	26.85	27.05
38	27.15	26.65	27.2	17.15	27.2
39	25.95	26.35	26.75	26.8	26.05
40	25.95	27.05	26.9	26.9	25.95
41	26.2	25	27.3	27.3	26.15
42	28.15	27.45	27	27.95	28
43	27.7	27.5	27.7	27.7	27.95
44	27.3	27.3	27.65	27.65	27.45
45	26.7	26.95	27.1	27.1	27.15
46	25.5	24.35	24.45	24.4	25.4
47	26.2	25.55	25.8	25.8	26.3
48	27.75	26.7	26.95	27.05	27.5
49	27.05	26.65	26.85	26.85	26.95
50	27.2	26.5	26.55	26.55	27.05
51	26.9	26.2	26.35	26.55	26.8
52	26.15	26.85	26.95	26.85	26.2
53	27.65	27.35	27.2	27.2	27.1
54	26.65	25.95	26.25	26.2	26.5
55	26.55	26.1	26.1	28	26.6
56	26	25.55	25.85	25.55	26.5
57	26.95	26.45	26.65	26.85	27.05
58	27.7	27.35	27.35	27.35	28.05
59	26.65	26.95	27.1	27.05	27.15
60	27.15	26.5	26.55	26.55	27.1

Anexo P. Oxígeno Disuelto durante el periodo de estudio

Días	TRATAMIENTO				
	T ₀ R ₁	T ₁ R ₁	T ₂ R ₁	T ₃ R ₁	T ₄ R ₁
1	3.135	3.12	3.015	2.985	3.325
2	3.06	2.79	2.8	2.81	3.33
3	3.01	2.665	2.785	2.775	3.25
4	3.15	2.715	2.785	2.53	3.16
5	2.7	3.185	3.01	2.725	3.25
6	3.08	3.16	3.02	2.655	2.96
7	3.16	2.78	3.04	2.565	3.285
8	2.015	2.1	1.81	1.66	1.765
9	2.31	2.11	2.1	1.6	2.115
10	2.29	1.91	1.89	1.84	2.02
11	2.615	2.03	1.95	2.035	2.505
12	2.485	2.765	2.34	2.15	2.48
13	2.5	1.995	1.98	2	2.485
14	2.525	1.905	1.81	1.925	2.375
15	2.595	2.715	2.65	2.11	2.595
16	2.3	2.29	1.95	1.775	2.12
17	2.015	1.95	1.805	1.79	1.99
18	2.17	1.79	1.705	2.14	1.99
19	2.12	2.08	2.01	1.95	1.765
20	2.115	2	1.59	1.66	2.03
21	2.395	2.495	2.125	2.095	2.06
22	1.99	2.2	2.165	2.02	2.25
23	2.08	2.425	2.15	2.015	2.445
24	1.96	1.895	1.68	1.74	1.815
25	2.02	2.095	1.615	1.55	1.885
26	2.045	2.29	1.85	1.85	1.775
27	1.905	1.715	1.69	1.735	1.625
28	1.895	1.515	1.31	1.375	1.645
29	2.02	1.655	1.43	1.38	1.815
30	1.75	1.94	1.565	1.72	1.64
31	1.46	1.49	1.325	1.175	1.19
32	1.635	1.385	1.525	1.37	0.93
33	1.48	1.365	1.49	1.035	0.915
34	1.47	1.8	1.465	1.15	1.39

35	1.605	1.93	1.605	1.525	1.075
36	1.38	1.705	1.35	1.205	1.13
37	1.825	1.28	1.095	1.335	1.285
38	1.855	1.78	1.66	1.855	1.39
39	2.345	1.61	1.49	1.395	1.375
40	1.765	2.21	1.64	1.6	1.69
41	2.245	1.235	1.22	1.31	1.285
42	1.745	1.695	1.415	1.72	1.415
43	1.82	1.4	1.69	1.305	1.555
44	1.695	1.195	1.285	1.19	1.415
45	1.48	1.485	1.57	1.35	1.335
46	1.565	1.735	1.21	1.46	1.245
47	1.94	1.78	1.64	1.62	1.425
48	1.915	1.855	1.665	1.715	1.755
49	1.8	1.705	1.355	1.305	1.395
50	1.985	1.78	1.4	1.29	1.415
51	2	1.77	1.205	1.555	1.075
52	2.505	1.79	1.695	1.99	1.985
53	1.845	1.97	1.63	1.68	1.815
54	1.76	1.94	1.575	1.725	1.64
55	2.29	1.825	1.925	1.84	2.025
56	3.15	2.715	2.79	2.525	3.11
57	1.825	1.525	1.095	1.34	1.285
58	2.52	1.855	1.77	1.9	2.375
59	1.48	1.49	1.57	1.345	1.285
60	1.985	1.78	1.41	1.29	1.42

Anexo Q. pH durante el periodo de estudio

Días	TRATAMIENTO				
	T ₀ R ₁	T ₁ R ₁	T ₂ R ₁	T ₃ R ₁	T ₄ R ₁
1	5,65	6,4	6,2	6,3	5,65
2	5,35	6,15	6,05	6,15	5,4
3	5,9	6,25	6,25	5,95	5,95
4	6,25	6,3	6,3	6,3	6,1
5	6,1	6,2	6,25	6,15	6,05
6	5,9	6,15	6,15	6,05	6,05
7	5,7	6	6,05	6,1	5,95
8	5,85	5,9	5,9	5,8	5,7
9	6,05	5,75	5,75	5,6	5,95
10	5,8	5,8	5,8	5,8	5,75
11	5,7	6,05	6,1	6,25	5,7
12	5,2	5,95	6	6,05	5,25
13	5,8	5,7	5,95	5,85	5,75
14	6,45	6	5,95	5,9	6,4
15	5,7	6	5,9	5,95	5,7
16	5,45	5,75	5,8	5,8	5,45
17	5,4	5,6	5,55	5,65	5,35
18	5,6	5,65	5,6	5,7	5,6
19	5,4	5,55	5,6	5,5	5,45
20	5,6	5,7	5,6	5,6	5,45
21	3,78	5,75	5,8	5,85	5,35
22	6,15	5,25	5,1	5,15	6,05
23	6,1	5,7	5,9	5,85	6
24	5,7	5,65	5,6	5,65	5,7
25	5,65	5,55	5,55	5,55	5,65
26	5,4	5,3	5,3	5,25	5,35
27	5,5	5,4	5,4	5,35	5,3
28	5,3	5,4	5,35	5,35	5,3
29	5,4	5,35	5,3	5,2	5,3
30	5,25	5,35	5,25	5,35	5,21
31	6,89	6,39	6,51	6,58	6,77
32	7,01	6,75	6,72	6,73	6,9
33	6,88	6,78	6,85	6,85	6,8
34	6,31	6,5	6,52	6,5	6,25
35	6,03	6,18	6,18	6,2	6,01

36	6,08	6,14	6,13	6,14	6,04
37	6,16	6,08	6,11	6,11	6,1
38	6,135	5,48	5,4	5,68	5,79
39	5,49	6,01	5,88	5,81	5,48
40	5,185	5,55	5,51	5,43	5,05
41	5,71	6,33	6,31	6,3	5,83
42	5,45	5,25	5,2	5,15	5,42
43	6,22	5,78	5,83	5,88	6,16
44	6,76	6,46	6,44	6,43	6,7
45	6,83	6,7	6,7	6,69	6,71
46	5,72	5,81	5,78	5,79	5,665
47	5,72	5,66	5,67	5,58	5,62
48	5,68	5,7	5,57	5,63	5,58
49	5,825	5,86	5,79	5,81	5,78
50	6,04	6,39	6,13	6,18	6,03
51	5,68	6,29	6,3	6,3	5,83
52	5,55	5,5	5,55	5,65	5,55
53	5,7	5,65	5,6	5,65	5,7
54	5,25	5,35	5,15	5,45	5,21
55	5,8	5,85	5,8	5,9	5,8
56	6,2	6,3	6,25	6,3	6,05
57	6,16	6,08	6,11	6,11	6,17
58	6,45	6	5,9	5,95	6,37
59	6,83	6,7	6,65	6,69	6,7
60	6,04	6,39	6,12	6,18	5,83

Anexo R. Nitritos durante el periodo de estudio

NÚMERO DE DIAS	NITRITOS (mg/L)	
	SISTEMAS	
	Sistema 1	Sistema 2
7	0,166	0,163
14	0,251	0,166
21	0,375	0,200
28	0,375	0,121
35	0,317	0,094
42	0,296	0,133
49	0,125	0,072
56	0,229	0,146

Anexo S. Nitratos durante el periodo de estudio

NUMERO DE DIAS	NITRITOS (mg/L)	
	SISTEMAS	
	Sistema 1	Sistema 2
7	23,9	16,7
14	103,2	96,5
21	103,7	136,3
28	113,4	84,4
35	91,2	59,6
42	50	21,5
49	34,7	27,6
56	40,1	78,1

Anexo T. Nitrógeno Amoniacal Total durante el periodo de estudio

NÚMERO DE DIAS	NITROGENO AMONIACAL (mg/L)	
	SISTEMAS	
	Sistema 1	Sistema 2
7	0,029	0,027
14	0,27	0,6
21	0,6	0,59
28	0,6	0,49
35	0,6	0,6
42	0,6	0,47
49	0,6	0,41
56	0,6	0,6

Anexo U. Cálculo para conteo de Unidades Formadoras de Colonias UFC.

- Conteo en cámara Neubauer en cuadrantes extremos

$$\frac{Cél}{mL} = \frac{\sum \text{células de los cada uno de los cuadrates}}{4}$$

$$\frac{Cél}{mL} = \bar{X} \text{ cuatro cuadrantes} * 10.000$$

- Conteo en cámara Neubauer en cuadrante medio

$$\frac{Cél}{mL} = \frac{\sum \text{conteo de cinco celdas}}{5}$$

$$\frac{Cél}{mL} = \bar{X} \text{ cinco cuadrantes} * 25 * 10.000$$

Anexo V. Cálculo relación Beneficio/Costo

Equipo	Capacidad (kg/m3)	Potencia (W/h)	Precio kW	Energía total (kW)	Precio total
Blower	10	45	\$ 500	64,8	\$ 32.400
Peso promedio (g)	Número de animales	W/Animal/h			
4	2500	0,018			
kW/h	kW/día	Tiempo de ensayo (días)			
0,045	1,08	60			
0,000018	0,000432	kW/2meses			
		0,02592			

Anexo W. Cálculo relación Beneficio/Costo por tratamiento

			Valor	Valor total
T0	Animales iniciales	128	\$250	\$32.000
	Concentrado (g)	178,46	\$3	\$491
	Energía eléctrica (kW)	2,70	\$500	\$1.348
			TOTAL	\$33.839
	Animales venta	104	\$ 500	\$52.000
	Costo/Beneficio			\$1,54
			Valor	Valor total
T1	Animales iniciales	128	\$250	\$32.000
	Concentrado (g)	183,2	\$3	\$504
	Probiótico (lb)	0,2	\$52	\$10
	Energía eléctrica (kW)	2,49	\$500	\$1.244
			TOTAL	\$33.758
	Animales venta	96	500	\$48.000
	Costo/Beneficio			\$1,42
			Valor	Valor total
T2	Animales	128	\$250	\$32.000
	Concentrado (g)	201,89	\$3	\$555
	Energía eléctrica (kW)	2,56	\$500,00	\$1.282
			TOTAL	\$33.838
	Animales venta	99	500	\$49.472
	Costo/Beneficio			\$1,46

			Valor	Valor total
T3	Animales	128	\$250	\$32.000
	Concentrado (g)	174,68	\$3	\$480
	Energía eléctrica (kW)	2,64	\$500	\$1.322
			TOTAL	\$33.802
	Animales venta	102	500	\$50.995
	Costo/Beneficio	\$1,51		
			Valor	Valor total
T4	Animales	128	\$250	\$32.000
	Concentrado (g)	164,39	\$3	\$452
	Energía eléctrica (kW)	2,70	\$500	\$1.348
			TOTAL	\$33.800
	Animales venta	104	500	\$52.000
	Costo/Beneficio	\$1,54		