

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.

**ELIANA KATERINE ARELLANO REALPE
DIANA MARCELA BENÍTEZ MORALES**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
PASTO, COLOMBIA
2017**

**EVALUACIÓN DE UN CONSORCIO MICROBIANO (*Lactobacillus* y *Bacillus*)
CON POTENCIAL PROBIÓTICO EN LA ALIMENTACIÓN DE ALEVINOS DE
TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) BAJO CONDICIONES DE
LABORATORIO EN LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO.**

**ELIANA KATERINE ARELLANO REALPE
DIANA MARCELA BENÍTEZ MORALES**

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

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

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
PASTO, COLOMBIA
2017**

“Las ideas y conclusiones aportadas en esta tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1° del acuerdo no. 324 de octubre 11 de 1966, emanado del honorable consejo directivo de La Universidad De Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN

ÁLVARO JAVIER BURGOS ARCOS, ZOOT, M. SC., PH.D
DIRECTOR TRABAJO DE GRADO

ARIEL EMIRO GÓMEZ CERON
JURADO DELEGADO

KATIA LUZ ANDREA BENAVIDES ROMO
JURADO

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

ÁLVARO JAVIER BURGOS ARCOS	Zootecnista, Esp, PhD. Profesor de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la 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.
ARIEL EMIRO GÓMEZ CERÓN.	BM, Esp. Profesor de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.
PIEDAD MEJIA SANTACRUZ	Secretaria del Departamento de Recursos Hídricos.
ÓSCAR MEJIA SANTACRUZ	Auxiliar del centro de documentación de la Biblioteca Alberto Quijano.
LUIS ALFONSO SOLARTE PORTILLA	Zootecnista, Esp. Secretario Académico de la 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 prestaron su apoyo.

CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	12
2. OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVO GENERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	17
3.1 BIOLOGÍA DE LA ESPECIE	17
3.1.1 Clasificación taxonómica.....	17
3.1.2 Generalidades de la especie.....	17
3.1.3 Hábitos alimenticios.	18
3.1.4 Parámetros generales para el cultivo de Trucha.....	18
3.2 MICROBIOTA INTESTINAL EN ORGANISMOS ACUÁTICOS	19
3.3 PROBIÓTICO	21
3.3.1 Importancia de probióticos.	22
3.3.2 Características de los probióticos como suplemento alimenticio.	23
3.3.3 Criterios generales para la selección de un probiótico.....	24
3.3.4 Mecanismos de acción.....	25
3.3.5 Selección de probiótico.	25
3.3.6 Beneficios de los probiótico	26
3.3.7 Consorcios microbianos.	27
3.3.8 Clasificación e identificación de bacterias.....	27
3.3.9 Probióticos en acuicultura.....	29
3.4 SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN ACUÍCOLA (RAS)	32
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
4.1 LOCALIZACIÓN.....	33
4.2 MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS.....	33
4.2.1 Materiales.	33
4.2.2 Equipos.	34
4.2.3 Insumos.	34
4.3 MATERIAL BIOLÓGICO	35
4.4 PERIODO DE ESTUDIO.....	36
4.5 PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO.....	36
4.5.1 Obtención de las muestras.	36
4.5.2 Proceso de siembra	38
4.5.3 Purificación e identificación de bacterias.	38
4.5.4 Conservación de cepas	39
4.5.5 Mediciones de crecimiento y conteo bacteriano	40
4.5.6 Comparación cepas obtenidas con cepas referencia.	40
4.6. ADECUACIÓN DE INSTALACIONES	41
4.6.1 Construcción de Sistema de Recirculación Acuícola “RAS”	41

4.7 MONITOREO DE ANIMALES.....	43
4.8 INCORPORACIÓN DEL POSIBLE POTENCIAL PROBIÓTICO AISLADO AL ALIMENTO Y ALIMENTACIÓN.....	43
4.9 INCORPORACIÓN DEL PROBIÓTICO COMERCIAL AL ALIMENTO. ..	44
4.11 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	44
5. RESULTADOS.....	47
5.1 PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE LAS CEPAS CON POSIBLE POTENCIAL PROBIÓTICO	47
5.2 Pruebas bioquímicas de las cepas de referencia.....	48
5.3 Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y curva de crecimiento.....	48
5.4 ANÁLISIS DATOS ESTADÍSTICOS.	51
5.4.1 Incremento de peso semanal.....	51
5.4.2 Incremento de talla semanal.	53
5.4.3 SUPERVIVENCIA.....	54
5.5 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DEL AGUA.....	55
5.5.1 Temperatura.	55
5.5.2 Oxígeno disuelto.	55
5.5.3 Potencial de Hidrógeno (pH).....	56
5.6 RELACIÓN BENEFICIO/COSTO.....	56
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	59
6.2 INCREMENTO DE TALLA SEMANAL.....	60
6.3 SUPERVIVENCIA.....	61
6.4 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DEL AGUA.....	63
6.4.1 Temperatura.	63
6.4.2 Oxígeno disuelto.	63
6.4.3 Potencial de Hidrógeno.....	64
6.4.4 Costo- Beneficio.....	64
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	65
7.1 CONCLUSIONES.	65
7.2 RECOMENDACIONES.....	66
8. BIBLIOGRAFÍA.....	67
ANEXOS.....	76

LISTAS DE FIGURAS

	Pág
FIGURA 1 . FORMA Y EVALUACIÓN DE LAS COLONIAS.....	28
FIGURA 2. BORDE DE LAS COLONIAS	29
FIGURA 3. UNIVERSIDAD DE NARIÑO, PASTO - NARIÑO	33
FIGURA 4. EXTRACCIÓN DE ALEVINOS QUEBRADA LA ESPERANZA.	35
FIGURA 5. ESTERILIZACIÓN DEL MATERIAL DE VIDRIERÍA	36
FIGURA 6. RECEPCIÓN DE ALEVINOS.	37
FIGURA 7. EXTRACCIÓN DE 1G DE MATERIAL BIOLÓGICO.	37
FIGURA 8. INÓCUO Y SIEMBRA DE LAS BACTERIAS.....	38
FIGURA 9. TUBOS EPENDORF CON LAS CEPAS AISLADAS.....	40
FIGURA 10. CEPAS DE REFERENCIA.	41
FIGURA 11. SISTEMA DE RECIRCULACIÓN ACUÍCOLA.....	42
FIGURA 12. CHILLER ARTESANAL.....	42
FIGURA 13. MONITOREO DE ANIMALES	43
FIGURA 14. CULTIVO BACILLUS SP.....	49
FIGURA 15. CULTIVO LACTOBACILLUS SP.....	49
FIGURA 23. PORCENTAJE SUPERVIVENCIA	62

LISTAS DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Distribución del alimento más probiótico en los tratamientos.	45
Tabla 2. Resultados pruebas bioquímicas cepas de referencia..	48
Tabla 3. Resultados bioquímicos cepa 1.....	47
Tabla 4. Resultado pruebas bioquímicas cepa 2.	48
Tabla 5. Conteo de unidades formadoras de colonias (ufc).	49
Tabla 6. Incremento de peso por tratamiento (gramos).....	51
Tabla 7. Incremento de peso por tratamiento.	54
Tabla 8. Porcentaje de supervivencia en los tratamientos durante la investigación.....	55
Tabla 9. Costos parciales.	57
Tabla 10. Beneficio/costos.	58

LISTA DE ANEXOS

	Pág
ANEXO A. Muestreo semanal peso y talla.....	77
ANEXO B. Pruebas bioquímicas C1.....	86
ANEXO C. Pruebas bioquímicas C2.....	87
ANEXO D. Anova peso	88
ANEXO E. Estadístico semana 1 - 5.....	90
ANEXO F. Análisis estadístico peso semana 5 – semana 9.....	92
ANEXO G. Análisis estadístico talla semana 1 – semana 9.....	99
ANEXO H. Supervivencia.....	114
ANEXO I. Monitoreo temperatura.....	116
ANEXO J. Monitoreo oxígeno disuelto.....	118
ANEXO K. Monitoreo pH.	120

GLOSARIO

ADHERENCIA: proceso de unión de bacterias a células u otras especies, previo a la proliferación.

AISLAMIENTO BACTERIANO: separación de un determinado microorganismo del resto que le acompañan. Técnicas usadas en el laboratorio de microbiología para la transferencia de un microorganismo de un ambiente a otro con la finalidad de inducir su crecimiento para su identificación.

ALEVINO: cría de Pez que incluye la fase comprendida entre la larva y el juvenil.

ANTIBIÓTICOS: son las drogas de origen natural o sintético que tienen la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de microorganismos.

BACTERIA: microorganismo unicelular procarionte que puede provocar enfermedades, fermentaciones o presentar beneficios en los seres vivos o materias orgánicas.

DOSIS PROBIÓTICA: concentración de microorganismos probióticos medida en células por milímetros de probiótico

PROBIÓTICO: bacterias que cumplen una función benéfica al hospedero.

UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA: número viable de bacterias por muestra.

RESUMEN

El presente estudio evaluó un consorcio microbiano con potencial probiótico, el cual se obtuvo a partir del aislamiento del tracto digestivo de alevinos silvestres de trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* y este a su vez fue comparado con un probiótico comercial con el fin de mejorar parámetros zootécnicos como peso, talla y supervivencia de alevinos de la misma especie. Esta investigación se realizó en los laboratorios del programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño.

En un sistema de recirculación con 20 acuarios, se empleó 1000 animales de los cuales se sembraron 50 por acuario, con peso promedio de 0,5 g y con una longitud de 3 cm, a una temperatura constante de 13 °C; para mantener dicha temperatura se manejó un Chiller artesanal. Se aplicó un diseño completamente aleatorio distribuido en cinco tratamientos y cada uno con cuatro réplicas, ordenados de la siguiente manera: T0= alimento comercial al 50% de proteína; T1= alimento comercial + 2×10^5 UFC de probiótico comercial; T2= 2×10^5 UFC *Bacillus sp* por gramo de alimento comercial (2×10^5 UFC); T3= 2×10^5 UFC de *Lactobacillus sp* por gramo de alimento comercial; T4= 2×10^5 UFC de *Bacillus sp* + *Lactobacillus sp* por gramo de alimento.

Los resultados fueron evaluados mediante ANOVA, y prueba de TUKEY; las variables evaluadas fueron: incremento de peso y talla semanal, porcentaje de supervivencia y análisis parcial de costos.

En las variables incremento de peso, longitud el análisis de varianza mostró que existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$), evidenciándose en el T4 con 7,42 g en comparación con el T1 5,64 g en peso, para talla fue de 8,5 cm para T4, comparada con T1 con una longitud de 7,73 cm. Los resultados señalan que la incorporación de la mezcla de dos microorganismos potencialmente probióticos en el alimento mejora notablemente las variables de peso, talla y la mejor relación beneficio costo en la fase de alevinaje de trucha arcoíris, en condiciones de laboratorio.

ABSTRACT

This study evaluated a microbial consortium with probiotic potential, which was obtained from the isolation of the digestive tract of wild trout from rainbow fingerlings trout *Oncorhynchus mykiss* and this in turn was compared with a commercial probiotic in order to improve zootechnical parameters such as weight, size and survival of fingerlings of the same species. This research was carried out in the laboratories of the Aquaculture Production Engineering Program of the University of Nariño.

In a recirculation system with 20 aquariums, 1000 animals were used, of which 50 were sown per aquarium, with an average weight of 0.5 g and with a length of 3 cm, at a constant temperature of 13 ° C; to maintain this temperature, an artisanal Chiller was handled. A completely randomized design was applied, distributed in five treatments and each with four replicates, ordered as follows: T0 = 50% protein commercial food; T1 = commercial feed + 2 x10⁵ CFU of commercial probiotic; T2 = 2 x10⁵ CFU *Bacillus* sp per gram of commercial feed (2 x10⁵ CFU); T3 = 2 x10⁵ CFU of *Lactobacillus* sp per gram of commercial feed; T4 = 2 x10⁵ CFU of *Bacillus* sp + *Lactobacillus* sp per gram of feed.

The results were evaluated by ANOVA, and TUKEY test; The variables evaluated were: increase in weight and weekly size, percentage of survival and partial cost analysis.

In the variables weight increase, length analysis of variance showed that there are significant statistical differences ($p < 0.05$), evidenced in T4 with 7.42 g compared to T1 5.64 g in weight, for size was of 8.5 cm for T4, compared to T1 with a length of 7.73 cm. The results indicate that the incorporation of the mixture of two potentially probiotic microorganisms in the feed significantly improves the variables of weight, size and the best cost benefit ratio in the trout phase of rainbow trout, under laboratory conditions.

INTRODUCCIÓN

Para Mendoza¹, la producción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es una de las actividades de la producción acuícola de mayor crecimiento en las últimas décadas a nivel mundial, la mayor producción en los últimos años está centrada en Europa, Norte America, Chile, Japon y Australia. En consecuencia, La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) citadas por PNS-PC² menciona que, la producción mundial de trucha para el año 2012 fue de 373.542 toneladas, representando el 67.4% de la producción mundial.

A nivel nacional Montaña³ menciona que, en Colombia la producción de trucha arcoíris para el año 2009 se acercó al 11,36% de la producción acuícola del país. Por su parte, a nivel regional Merino⁴, afirma que, un poco más del 1% de la producción nacional la representan las truchas que se cultivan en jaulas en el lago de La Cocha, en Nariño.

Para la N.A.S.O⁵ en respuesta a la alta demanda y con el fin de crecer en los mercados acuícolas las densidades de cultivo se han incrementado en niveles cada vez mayores, causando problemas sanitarios, bajas supervivencias y altas conversiones alimenticias entre otros, representando los principales cuellos de botella en la perdida potencial de la producción. Por lo anterior, es de vital importancia la búsqueda de tecnologías que permitan mejorar los parámetros productivos del cultivo de esta especie, tal como el manejo de animales correctamente alimentados y cultivados bajo condiciones de buena calidad de agua mediante procesos innovadores como el uso de microorganismos probióticos que incidan en mayores posibilidades de resistir y superar el ataque de posibles agentes patógenos sin el uso de sustancias antibióticas.

¹ MENDOZA, D. Estudio sobre la acuicultura de la trucha a nivel mundial, el desenvolvimiento de la importación de ovas, latendencia de la producción nacional y su comercialización. Dirección Nacional de Acuicultura. Perú. 2011. p. 2.

² NATIONAL AQUACULTURE SECTOR OVERVIEW, Op. cit. P. 56.

³ MONTAÑA, C. Crecimiento y sobrevivencia en el levante de alevinos de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en sistemas cerrados de recirculación de agua. Trabajo de Grado. Universidad Militar de Nueva Granada. Bogota, 2009. p. 12.

⁴ MERINO, M; BONILA, S; BAGES, F. Diagnóstico del Estado de la Acuicultura en Colombia. Autoridad Nacional de Acuicultura y pesca, Bogotá, 2013. P. 56.

⁵ NATIONAL AQUACULTURE SECTOR OVERVIEW (N.A.S.O). Visión general del sector acuícola nacional - Colombia. National Aquaculture Sector Overview Fact Sheets. Citado por Plan de Negocios Sectorial de la Piscicultura de Colombia. Consorcio formado por In-Nova Programa de Innovación Internacional S.L. y la Universidad Politécnica de Madrid. 2015. P. 5.

Por consiguiente Ortega afirma:

“Las especies acuícolas como cualquier organismo viviente, mantienen en su tracto digestivo colonias bacterianas como habitantes naturales en constante equilibrio dinámico, algunas de ellas pueden ser patógenas y otras benéficas para el hospedero, la ruptura de ese equilibrio conduce a un bajo índice de supervivencia, reducción en el crecimiento, lo cual reduce de manera considerable los ingresos a los productores”⁶.

En relación a lo anterior también se conoce la formación de consorcios microbianos como organismos benéficos; Castaño, et al⁷ afirma que, la generación de consorcios en es una herramienta que permite hallar diversas funciones y habilidades metabólicas, debido a la variedad de microorganismos allí presentes, lo cual facilita la realización de un trabajo conjunto en la degradación de diferentes compuestos.

El propósito de esta investigación es brindar fundamentos prácticos para futuros estudios, debido a que representa un aporte para las investigaciones relacionadas con el uso de consorcios microbianos con potencial probiótico (autóctonos) y consecuentemente para el mejoramiento de diferentes parámetros zootécnicos en las producciones acuícolas generado un interés en el uso de bacterias probióticas para incrementar la resistencia a enfermedades, mediante la estimulación del sistema inmunológico en el cultivo de peces.

⁶ ORTEGA, L.; FUERTES, K. Evaluación de bacterias con potencial probiótico en la alimentación de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tumaco, Colombia. 2014. P. 5 – 20.

⁷ CASTAÑO, G; ARHEX, P; PAGLIERO, F; LORDA, G. Interacciones celulares medidas por moléculas quorum como herramienta biotecnológica para el desarrollo de consorcios bacterianos PGPRs. Buenos Aires; Argentina: Universidad Nacional de La Pampa. 2015. p. 40-55.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar un posible consorcio microbiano (*Lactobacillus sp* y *Bacillus sp*) con potencial probiótico, en la alimentación en fase de alevinaje de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo condiciones de laboratorio en la Universidad de Nariño.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aislar, identificar y masificar el cultivo de un posible consorcio microbiano con potencial probiótico a partir de la microbiota del tracto digestivo de alevinos silvestres (*Oncorhynchus mykiss*) provenientes de la laguna de la cocha del municipio de Pasto.

Evaluar los parámetros zootécnicos: incremento de peso semanal, incremento de talla semanal y porcentaje de supervivencia, del uso de un probiótico comercial y el un posible consorcio microbiano extraído de alevinos silvestres de trucha arcoíris

Determinar la relación beneficio-costo parcial en base a la alimentación de los diferentes tratamientos.

3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

3.1 BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

3.1.1 Clasificación taxonómica⁸.

Phylum: Chordata
Subphylum: Vertebrata
Clase: Osteichthyes
Subclase: Actinopterygios
Orden: Salmoniformes
Suborden: Salmonoidei
Familia: Salmonidae
Género: *Oncorhynchus*
Especie: *mykiss*
Nombre científico: *Oncorhynchus mykiss*
Nombre común: Trucha Arco Iris

3.1.2 Generalidades de la especie. La FAO⁹ menciona que, la trucha arco iris es nativa de las cuencas que llegan al Pacífico en América del Norte, desde Alaska a México. La trucha es un pez de hábito carnívoro y se alimenta en la naturaleza de presas vivas, como insectos en estado larvario, moluscos, crustáceos, gusanos, renacuajos y peces pequeños. Salazar¹⁰ nombra que su introducción en Colombia se realizó en 1939 para el repoblamiento de aguas de uso público en la zona Andina con fines de pesca deportiva, específicamente, en el Lago de Tota en Boyacá.

Son peces de agua frías, aunque el grado de tolerancia a la temperatura es amplio, pudiendo subsistir a temperaturas de 25°C, durante varios días y a límites inferiores cercanos a la congelación. En sus primeros estadios (ovas, larvas y alevines), tienen como predadores a otros peces de mayor tamaño, las aves, como la gaviota y la garza gris. FAO¹¹ asegura que, la trucha arco iris es un pez resistente y fácil de desovar, de crecimiento rápido, tolerante a una amplia gama

⁸ WALBAUM, Johann. 1792, citado por, PARRADO, Yinet. Historia de la acuicultura en Colombia, revista científica de la sociedad española de acuicultura. Huila, Colombia. 2012. P. 23.

⁹ FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Programa de información de especies acuáticas. Recursos pesqueros y de acuicultura. Topics Fact Sheets. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. 2015. Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/es#tcN80064

¹⁰ SALAZAR, Ariza. Fundamentos de acuicultura continental. Consideraciones generales sobre la acuicultura, citado por, Pineda, Hermes; et al. Triploidía en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*): posibilidades en Colombia. Medellín, Colombia. 2004. P. 46.

¹¹ FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Programa de información de especies acuáticas. Recursos pesqueros y de acuicultura. Topics Fact Sheets. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. 2015. Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/es#tcN80064

de ambientes y manipulaciones; los alevines grandes (que usualmente comen zooplancton) pueden ser iniciados fácilmente en la alimentación con una dieta artificial.

3.1.3 Hábitos alimenticios. Según Mora et al¹², la trucha es un pez carnívoro y se alimenta en la naturaleza de las presas vivas que captura, como insectos acuáticos y terrestres, larvas, crustáceos y peces forrajeros, en una proporción mayor de aquellos organismos que son más fácilmente alcanzados, ahorrando de esta manera energía sobre otros que suponen riesgo y esfuerzo. Bastardo et al¹³, menciona que las composiciones de la dieta de la trucha mantienen una dieta variada de organismos (crustáceos, insectos, otros peces de menos tamaño) y netamente proteínica, que se encuentran ubicados en la fauna del bentos los ríos.

Aguilar¹⁴, menciona que son especies oportunistas, no solo por la variedad de su dieta, sino por la facilidad de adaptación, los cambios ambientales y la disponibilidad de alimento; puesto que la trucha normalmente captura su alimento por medio de la vista, la trucha aprovecha la mayor cantidad de luz diaria para capturar sus presas. Puccini¹⁵ afirma que las fluctuaciones en el contenido estomacal dependen de los cambios en el alimento disponible en el medio ambiente. Según Grosoman¹⁶ La dieta de la trucha es selectiva y básicamente insectívora, dominada en un 90 % por larvas y pupas del díptero Simuliidae, y larvas de tricópteros como Hydrochidae, Sericostomatida, e Hydroptilidae; los juveniles de trucha se alimentan en mayor proporción de larvas de otros peces y pupas de dípteros y las truchas adultas prefieren presas como larvas de tricópteros¹⁷.

3.1.4 Parámetros generales para el cultivo de Trucha. La FAO¹⁸ menciona que, la calidad de agua es fundamental en una producción de truchas, se debe conocer

¹² MORA, Gilberto; TELLEZ, Luz; CALA, Plutarco & GUILLOT, Gabriel. Estudio biotecnológico de la ictiofauna del lago de tota (boyaca-colombia), con énfasis en la trucha arcoíris, *Onchorhynchus mykiss*. 1992. P. 15.

¹³ BASTARDO, Hilda; et al. Hábitos alimenticios de la trucha Arcoiris, *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes: Salmonidae), en una quebrada Altandina Venezolana. Venezuela. 1994. P. 690.

¹⁴ AGUILAR, Marisela. Inducción a la maduración gonádica y conservación del esperma de la trucha de san pedro mártir *Oncorhynchus mykiss*. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA. México. 2010. p.65.

¹⁵ PUCCINI, Rafael; LANDINES, Miguel; DÍAZ, Gonzalo. Composición de ácidos grasos en ovas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). Revista scielo. Bogotá. 2012.

¹⁶ GROSMAN, Manuel. Interacciones tróficas entre trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), pejerrey patagónico (*Patagonina hatcheri*) y perca (*Percichthys trucha*) en un ambiente patagónico. Buenos Aires.1993. p.45.

¹⁷ Ibid. P. 35-49.

¹⁸ FAO. Manual practico para cultivo de trucha arcoíris. 2014. p. 6 -17. disponible en: <http://www.fao.org/3/a-bc354s.pdf>.

y mantener los parámetros físico-químicos que la especie necesita como temperatura, oxígeno disuelto (O₂) y pH.

Oxígeno disuelto. Según Montaña¹⁹, el nivel de O₂ presente en un sistema de acuicultura es el parámetro más importante en la calidad de agua. Si no existe una adecuada concentración de O₂, los organismos pueden ser vulnerables a enfermedades y parásitos, o morir por hipoxia. Las tasas mínimas de O₂ son de 5 a 5.5 mg/l, 7-8 mg/l regular y 9 – 10 mg/l óptimo; para la fase de alevinaje, se necesita un nivel de concentración superior a 7 mg/l.

Temperatura. En cuanto a temperatura se refiere, Diaz et al²⁰ indica, que en condiciones naturales la trucha arcoíris puede vivir en agua con temperaturas de 0 a 25°C; sin embargo, es necesario mencionar que en términos de cultivo los límites de temperatura que permite un crecimiento y desarrollo adecuados son 9 a 17 ° C, siendo la etapa de alevinaje 10 a 13°C la temperatura adecuada.

3.2 MICROBIOTA INTESTINAL EN ORGANISMOS ACUÁTICOS

Monroy afirma que, el término microbiota intestinal hace referencia 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”²¹.

Diaz²² menciona, la variedad bacteriana que existe en los peces proviene de la flora autóctona que existe en la zona que habitan, la cual se caracteriza por corresponder a bacterias Gram negativas y Gram positivas fundamentalmente. Existen evidencias que los peces recién capturados presentan los mismo microorganismos del ambiente donde viven. Por otra parte aunque el tejido muscular y líquidos tisulares son considerados estériles existe una cantidad de bacterias confinadas en la mucosidad de la piel, en las branquias y el intestino, los que pueden multiplicarse y penetrar en el tejido muscular.

¹⁹ MONTAÑA, C. Crecimiento y sobrevivencia en el levante de alevinos de Trucha Arcoirirs (*Onchorhynchus mykiss*) en sistemas cerrados de recirculación de agua. Universidad Militar Nueva Granada; Biología Aplicada. Colombia. 2009. p. 17.

²⁰ DIAZ, J; LEON, J. Utilización de espirulina (*Spirulina máxima*) en la alimentación de alevinos de trucha arcoíris (*Onchorhynchus mykiss*). Universidad de la Salle; Zootecnia. Colombia. 2014. P. 36.

²¹ MONROY, María; CASTRO, Talía; CASTRO, Jorge; CASTRO, Mejía; ANDRADE, Ramón. Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos acuáticos. 2012. p. 12.

²² DÍAZ, Alejandra. Presencia de bacterias saprofitas y patógenas en piel y branquias de pescado fresco. Universidad Austral De Chile. Chile. 2004. P. 5.

Wittwer²³ menciona que la morfología del tracto gastrointestinal de los peces varía según las especies, hábitat y dietas. Pero en general, es esencialmente un tracto muscular lineal; Según Guarner²⁴ la microbiota gastrointestinal de animales homeotermos, posee numerosas e importantes funciones como; digestión y desarrollo de la mucosa, angiogénesis, y desarrollo de la barrera protectora de enfermedades. Leyva²⁵ menciona que la flora intestinal es un ecosistema muy complejo y en constante cambio a lo largo del ciclo de vida del organismo, que se origina en algunos casos desde la eclosión, cuando las especies empiezan a filtrar diversas partículas que se van adhiriendo al organismo y forman una película protectora, esto varía según cambios adaptativos y según variaciones de la composición bioquímica de la dieta.

Según Núñez²⁶, inicialmente el intestino es dominado por cepas anaerobias facultativas y posteriormente la variabilidad de las poblaciones dependerá de la dieta ingerida, la edad, la ubicación geográfica, los tratamientos con medicamentos y el estado general del organismo.

Gonzales²⁷ menciona que, la actividad enzimática del tracto digestivo varía con la alimentación exógena donde la colonización de diferentes comunidades microbianas, que continuamente se ven afectadas por los cambios ambientales como la temperatura, salinidad, contaminación o por el uso de químicos y antibióticos. La flora bacteriana constituye un componente esencial de las redes tróficas en los ecosistemas marinos, tanto en actividad como en cantidad de biomasa, contribuyendo a la regeneración de nutrientes e interactuando con una amplia gama de organismos.

Del mismo modo, Gatesoupe²⁸, refiere desde un punto de vista ambiental, la microbiota es generalmente considerada como transitoria en organismos acuáticos. Estos animales son poiquilotermos, y su microbiota puede variar con los cambios de temperatura. Por lo tanto, el aislamiento de la microbiota intestinal acuática no está tan desarrollada como en las especies terrestres, aún así algunas

²³ WITTEWER, Geraldine. Caracterización bacteriana de intestino de salmón del atlántico adulto. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 2012. P. 35.

²⁴ GUARNER, F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. España. Revista scielo. 2007. P. 6

²⁵ LEYVA, María; ZAMUDIO, May. Studies and importance of microbial communities in fishery resources and products. Revista scielo. México. 2014. P. 2.

²⁶ NÚÑEZ, Melisa. Evaluación preliminar de las poblaciones bacterianas asociadas al tracto intestinal de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) expuesta a aceites esenciales de orégano en la dieta. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Bogotá, Colombia. 2011. P. 7.

²⁷ GONZÁLEZ, C; IRACHE, B; GONZÁLEZ, C. Soybean protein-based microparticles for oral delivery of probiotics with improved stability during storage and gut resistance. Food Chemistry, ScienceDirect. University of Navarra, Pamplona, Spain. 2017. P. 6.

²⁸ GATESOUBE, F. Uso de probióticos en acuicultura. Unite Mixte de Nutrition des Poissons INRA-IFREMER, Plouzané, France. 2000. P. 463.

cepas de microorganismos han sido probados para colonizar el intestino de los animales acuáticos.

Leyva²⁹ menciona que los peces, moluscos y crustáceos en sistemas de cultivo se encuentran rodeados por microorganismos patógenos que comparten su mismo ambiente y que en la mayoría de los casos son oportunistas en espera de algún cambio ambiental para presentar virulencia y dañar a las especies.

Por otro lado, Kailasapathy³⁰, cita que, gracias a las nuevas técnicas de detección e identificación bacteriana de ADN_r16S, el análisis del ADN polimórfico (RAPD), pruebas de PCR, inmunohistoquímica y sondas moleculares para fluorescencia, se han podido identificar otras especies como *Lactobacillus sp*, *Bacillus sp*, *Citrobacter gillenii*, *Shewanella marinus*, *Kluyvewra* intermedia entre otras, antes no descritas por lo que se siguen efectuando estudios para la identificación de las especies que predominan en la microbiota intestinal de diversos peces.

3.3 PROBIÓTICO

Romson et al³¹, postula que el término “probiótico”, inicio a mediados del siglo pasado a partir de la observación de la influencia positiva de determinados microorganismos en la flora intestinal, los probióticos son aquellos microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero, afectan en forma beneficiosa³²; por otro lado la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO³³ también afirma que es un suplemento bacteriano vivo que afecta beneficiosamente al huésped mejorando su balance intestinal.

²⁹ LEYVA, María; ZAMUDIO, May. Studies and importance of microbial communities in fishery resources and products. Revista scielo. México. 2014. p. 5.

³⁰ KAILASAPATHY, K. Protecting probiotics by microencapsulation. (on line). Australia: microbiology Australia. 2003. P. 47.

³¹ RONSÓN, José; MEDINA, Reyna. Probióticos en la acuicultura. Universidad de Santiago de Compostela. Revista. 2002. p. 35.

³² CAGIGAS, Ada; BLANCO, Jorge. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. Cuba. Revista Cubana Aliment Nutr. 2002. 5.

³³ FAO. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Probióticos en los alimentos, propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. 2002. P. 14.

Havenaar y Huis In't Veld, citados por Pérez³⁴, complementan este concepto haciendo hincapié en la presencia de microorganismos viables en número suficiente para provocar los efectos beneficiosos sobre la salud, a través de una alteración positiva de la microflora por colonización del intestino. Los componentes importantes de esta definición reflejan la necesidad de utilizar mecanismos vivos y aplicarlos al hospedador como un suplemento alimenticio.

Los Probióticos no son antibióticos, no obstante, se imponen por sobre los agentes patógenos a través de la exclusión competitiva, el agotamiento nutritivo y por la producción de metabolitos naturales para inhibir su crecimiento. Altamiro³⁵ menciona las bacterias benéficas también habitan en las branquias y el tracto digestivo impidiendo así que estas áreas sean invadidas. Adicionalmente mejoran la inmunidad no específica en camarones y peces, siendo este un fundamento importante para la aplicación de probiótico en todo el ciclo de producción.

La FAO afirma:

“Los probióticos acuáticos como organismos vivos que tienen un efecto benéfico en el huésped mediante la modificación de la comunidad microbiana asociada con el huésped, a través de una mejora en el uso del alimento o el incremento de su valor nutricional, mediante el incremento de la respuesta del huésped a las enfermedades, o a través del mejoramiento de la calidad de su ambiente. Esto implica que un amplio rango de organismos pueden ser empleados como probióticos para los animales acuícolas, a diferencia de los animales terrestres”³⁶.

3.3.1 Importancia de probióticos. Para Salazar y Montoya³⁷, las cepas de microorganismos probióticos deben presentar y mantener unas características que garanticen su crecimiento y supervivencia en el alimento que lo contienen; entre esas características están: viabilidad durante el proceso de adhesión y almacenamiento del alimento (capacidad que tienen estos microorganismos de permanecer vivos tanto en el alimento como en el intestino de consumidor durante un tiempo determinado), estabilidad frente a ácidos gástricos y biliares (resistir las concentraciones de ácido y sales biliares del estomago e intestino delgado). Los probióticos afectan el ecosistema intestinal estimulando los mecanismos

³⁴ PÉREZ, R. Efecto de la inclusión de probióticos y prebióticos en las dietas para la fase de alevinaje de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). Universidad Nacional de Colombia. Trabajo de grado, Zootecnia. Colombia. 2004. P. 29.

³⁵ ALTAMIRANO, Carlos. Evaluación de la efectividad del Probiótico “Sanolife Pro” en estanques de cultivo de camarones “*Litopenaeus vannamei*” en la Granja Acuicultura Torrecillas, Chinandega. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA. 2009. p. 56.

³⁶ FAO. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Probióticos en los alimentos, propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. 2002.

³⁷ SALAZAR, B. MONTOYA, O. Importancia de los probióticos y prebióticos. En : Vial, revista de la facultad de química farmacéutica. Vol. 10, N° 2. Universidad de Antioquia. Colombia. 2001. P.26.

inmunitarios de la mucosa y estimulando los mecanismos no inmunitarios a través de un antagonismo/competencia con los patógenos potenciales.

Kumar et al³⁸, afirma que los probióticos de la acuicultura tienen un papel muy importante que desempeñar en la degradación de la materia orgánica, reduciendo significativamente la formación de lodos. Como resultado la calidad del agua mejoraría al reducir la incidencia de la enfermedad (incluyendo *Vibrio sp.*, *Aeromonas sp.* Y virus), mejorando zooplancton, reduciendo los olores y, finalmente, mejorar la producción acuícola; a diferencia de los antibióticos a menudo tratan la enfermedad, pero el problema, el uso de químicos de amplio espectro, mata las bacterias benéficas en la columna de agua del estanque y no sólo las bacterias que causan problemas a los organismos acuáticos.

Selvaraj³⁹ ha reportado que la inducción leve de TNF-2 (factor de necrosis tumoral 2) en monocitos de *Oncorhynchus mykiss* con LPS de *Escherichia coli*, provoca el mejoramiento de la inmunidad y mejoramiento de la sobrevivencia inmunizando carpas comunes.

Selvaraj⁴⁰ menciona que las *Aeromonas salmonicida* extraído de *Oncorhynchus mykiss* incrementan la titulación de anticuerpos que persisten hasta por 2 – 4 semanas.

Por otra parte Milan⁴¹, plantea que son muchas las bacterias y levaduras que se pueden usar de forma beneficiosa para mantener una microbiota sana y en equilibrio. Los probióticos producen ácido láctico y ácido acético los cuales crean una alteración de pH que funcionan como un antiséptico del sistema digestivo y al mismo tiempo minimiza la proliferación de microorganismos patógenos.

3.3.2 Características de los probióticos como suplemento alimenticio. En el estudio de Ortiz et al⁴², menciona que los probióticos, son microorganismos vivos usados como suplementos alimenticios los cuales afectan positivamente al

³⁸ KUMAR, Maloy; SWARNAKUMAR, N; SIVAKUMAR, K; THANGARADJOU, T; KANNAN, K. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 6.

³⁹ SELVARAJ V, SAMPATH K, SEKAR V. ADJUVANT. Immunomodulatory effect of b-glucan administration in combination with LPS enhances survival and some immune parameters in carp challenge with *A. hydrophila*, Citado por VELAZQUEZ et al. Inmunoestimulantes en teleosteos: Probióticos, b-glucanos y LP. Universidad de los Llanos. Orinoquia. 2012. p. 23.

⁴⁰ Ibit. p. 25.

⁴¹ SALAZAR, B y MONTOYA, O. Op cit. P. 24.

⁴² ORTIZ, Ángela; REUTO, Isabella. Evaluación de la capacidad probiótica in vitro de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae*. Universidad Javeriana, Facultad de ciencias, microbiología industrial. Bogotá D. C. 2007. p.56.

huésped, que permiten dar una mejora al equilibrio microbiano en el tracto gastrointestinal, minimizando el crecimiento de patógenos.

Según Rodríguez et al⁴³, la administración de probióticos con las dosis adecuadas, ejercen beneficio en la salud del huésped más allá de lo exclusivamente nutricional. Los principales beneficios en las dietas de los probióticos de alta calidad, está relacionado con su habilidad para interactuar y adherirse a la pared intestinal, digerir los alimentos, aumenta la absorción de vitaminas, mantener un sano equilibrio intestinal, apoya en el sistema inmunológico con el aumento de la producción de anticuerpos.

El contacto que tiene el microorganismo con el huésped, es la capa de la mucosa, esta recubre al epitelio intestinal, tienen diferentes funciones; inhibir la adhesión de ciertas bacterias, a su vez sede su habitación para otras. El componente principal del mucus es agua. Ortiz⁴⁴ afirma que las mucinas son glicoproteínas de alta masa molecular constituida por esqueletos polipéptidos cuya parte central está altamente glicosilada con O- glicanos principalmente, en grupos de secuencias repetitivas, mientras que los extremos amino y carboxilo presentan una menor glicosilación.

3.3.3 Criterios generales para la selección de un probiótico. Los criterios para que los microorganismos sean considerados como probióticos son⁴⁵:

- No ser patogénicos por naturaleza.
- Ser resistentes a la destrucción por procedimientos tecnológicos.
- Ser resistentes a la destrucción por las secreciones gástricas y por la bilis.
- Poder adherirse al epitelio intestinal.
- Ser capaces de colonizar el tracto gastrointestinal, incluso por cortos períodos.
- Producir sustancias antimicrobianas.
- Modular las respuestas inmunitarias.
- Ejercer sus efectos beneficiosos en el huésped mediante su crecimiento y/o actividad en el cuerpo⁴⁶.
- Ejercer una influencia en algunas actividades metabólicas humanas, como la asimilación del colesterol, producción de vitaminas, etc.

⁴³ RODRIGUEZ, V; GUERRERO, J. A. Resistencia gastrointestinal y micro encapsulación. Departamento de ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. México. Revista scielo. 2010. P. 58

⁴⁴ ORTIZ, A.; REUTO I, Op. cit. p. 67.

⁴⁵TORMO, Carnicé. Probióticos. Concepto y mecanismos de acción. Gastroenterología y Nutrición Infantil. Hospital Vall d'Hebron. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España. 2006. P. 30

⁴⁶ RODRIGUEZ, V; GUERRERO, J. A. Resistencia gastrointestinal y microencapsulación. Departamento de ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. México. Revista scielo. 2010. p. 57

3.3.4 Mecanismos de acción. Según Pinos⁴⁷ los mecanismos de acción son:

Algunos ácidos excretados por los microorganismos de los probióticos bajan el pH intestinal por debajo del nivel que toleran los patógenos.

Efecto competitivo que puede ser mediado por la ocupación de los lugares de colonización y mejoría de los mecanismos barredores nutricionales

Capacidad de secreción por parte de los *Lactobacillus* y bacterias bífidas de *bacteriocinas* que tienen amplio espectro de actividad como *lactocinas*, *helveticinas*, *lactacinas*, *curvacinas*, *nicinas* y *bifidocinas*.

Así mismo, Borin⁴⁸, refiere que la forma de acción de los probióticos es:

1. Disociación del ácido liberando H⁺ para el medio.
2. Modulación de la microbiota intestinal.
3. Incremento del número de microorganismos benéficos: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus*.
4. Reducción del número de microorganismos indeseables: *Salmonella sp*, *E. coli*, *Clostridium sp*, *Staphylococcus sp*.

3.3.5 Selección de probiótico. La recomendación que menciona Ortiz⁴⁹ de productos bióticos para la terapia de enfermedades gastrointestinales debe considerar no solo la actividad biológica de las bacterias benéficas incluidas en la formulación, sino además, las condiciones fisiopatológicas. En la última década, se han descrito diferentes características deseadas en la selección de bacterias benéficas para la formulación de probióticos.

El mismo autor menciona que, los factores más asociados con la selección de bacterias probióticas incluyen, grado de colonización de la mucosa intestinal, actividad antimicrobiana contra patógenos gastrointestinales, producción de sustancias bactericidas y facilidad para adaptar esta tecnología en la producción a escala comercial. El probiótico debe ser el apropiado para las condiciones patológicas.

⁴⁷ PINOS, A. Breve reseña de los probióticos. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. 2007.

⁴⁸ BORIN. Importancia de los alimentos en la estabilidad de la flora microbiana para la salud del ave. AMEVEA-PERÚ. Nutrición Animal. 2006. Citado por, AGUAVIL, J. "Evaluación del efecto de un probiótico nativo elaborado en base a *LactoBacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* sobre el sistema gastrointestinal en pollos broiler ross-308 en santo domingo de los tsáchilas." SANTO DOMINGO – ECUADOR. 2012. p 6-7.

⁴⁹ ORTIZ, A. REUTO, I. Evaluación de la capacidad probiotica in vitro de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae*. Universidad Javeriana, Facultad de ciencias, microbiología industrial. Bogotá D. C. 2007.

3.3.6 Beneficios de los probiótico. Nava⁵⁰, señala que la implementación en una dieta de probióticos busca iniciar la producción de los siguientes compuestos beneficiosos para el huésped:

- Enzimas digestivas, Vitaminas y algunos ácidos grasos esenciales mencionado por la FAO⁵¹.
- Compiten con los patógenos por sitios de fijación evitando infecciones.
- Protegen y estimulan el sistema inmune de 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 nombrado por Nava.

La FAO afirma que:

“Por otra parte los beneficios pueden diferir: 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 huésped”⁵².

Competencia por sitios de fijación: la cepa prebiótica compite con los patógenos por los sitios de adhesión. No solo compite por el espacio para la fijación sino que puede producir sustancias inhibitorias una vez fijada en el tejido⁵³.

⁵⁰ Nava, GM; Davila V. New perspectives in the selection and evaluation of probiotics. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de México. 2004.

⁵¹ FAO. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Probióticos en los alimentos, propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. 2002.

⁵² FAO, Op. cit. p. 48.

⁵³ Ibit. p. 40.

3.3.7 Consorcios microbianos. Stams⁵⁴, menciona que las bacterias que viven en comunidades aprovechan las habilidades metabólicas de su asociación para superar las barreras energéticas y descomponer compuestos que no pueden digerir por sí mismos.

Ochoa⁵⁵, señala que los miembros de un consorcio se comunican el uno con el otro, ya sea por el intercambio de sustancias o por señales moleculares, cada población detecta y responde a la presencia de otras dentro del consorcio, ejerciendo sobre ellas un control positivo o negativo en su crecimiento y/o metabolismo. Aquí, “comunicación” se refiere a interacciones físico-químicas en las cuales el emisor, el canal y el receptor de la información están identificados. La agrupación y cooperación como estrategia para asegurar la supervivencia; características esenciales para el desarrollo, comunicación y coevolución. Son organizaciones vitales para el equilibrio del ecosistema, que ha existido y evolucionado a lo largo de millones de años gracias a la estrategia es la que hoy por hoy se requiere y promueve intensivamente.

3.3.8 Clasificación e identificación de bacterias. Existen diferentes tipos de identificación y clasificación de bacterias como:

- Aislamientos bacterianos. Madigan⁵⁶, afirma en su estudio que, “Los aislamientos de bacterias procedentes de medios naturales se realizan a través de cultivos líquidos o sólidos. El control de las condiciones ambientales a las que se someten los cultivos, así como el periodo de incubación, estimulan el crecimiento bacteriano masivo, y en el caso de los cultivos sólidos se facilita la agrupación de individuos semejantes y la posterior observación de colonias a simple vista”.

Haciendo referencia a lo anteriormente descrito Medina et al⁵⁷, menciona, que dentro de las técnicas comúnmente empleadas para el aislamiento de bacterias, se encuentran los cultivos de enriquecimiento, a través de los cuales se brindan condiciones de nutrición e incubación selectivas que favorezcan el crecimiento del

⁵⁴ STAMS J. M. & PLUGGE M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. Laboratory of Microbiology, Wageningen University, Dreijenplein 10, 6703 HB Wageningen, The Netherlands. Nature Reviews Microbiology. 2009. P. 69.

⁵⁵ OCHOA, Diana & MONTROYA, Alexandra. Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias; Universidad Nacional De Colombia, 2010. p. 61.

⁵⁶ MADIGAN, M. Biología de los microorganismos, citado por, MEDINA, Y. MESA, E. Evaluación de consorcios microbianos conformados a partir de aislamientos bacterianos con capacidad degradadora de tetranitrato de pentaeritrol (petn) y trinitrotolueno (tnt). Universidad de la Salle. Bogotá. (2011). P. 19

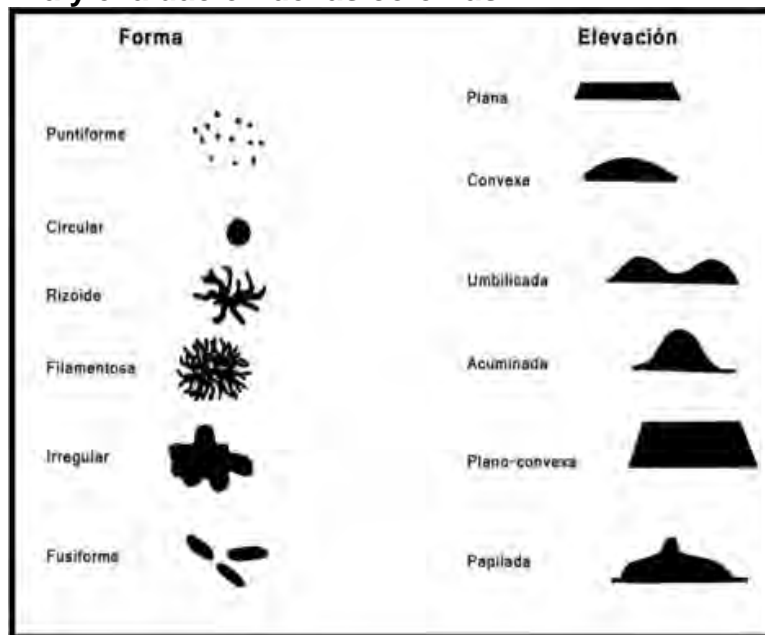
⁵⁷ MEDINA, Y. MESA, E. Evaluación de consorcios microbianos conformados a partir de aislamientos bacterianos con capacidad degradadora de tetranitrato de pentaeritrol (petn) y trinitrotolueno (tnt). Universidad de la Salle. Bogotá. (2011). P. 19

microorganismo que se desea aislar, y contra-selectivas, que inhiban la presencia de aquellos no deseados.

- Morfología macroscópica. Granados et al⁵⁸, menciona que una vez aislados los microorganismos y tras un periodo de incubación adecuado, deberán aparecer pequeñas masas visibles a simple vista que son el resultado del crecimiento de una célula bacteriana. La reproducción de esa bacteria origina lo que se conoce con el nombre de colonia.

En las Figuras 1 y 2 se presentan las características macroscópicas apreciables en una colonia.

Figura 1 . Forma y evaluación de las colonias

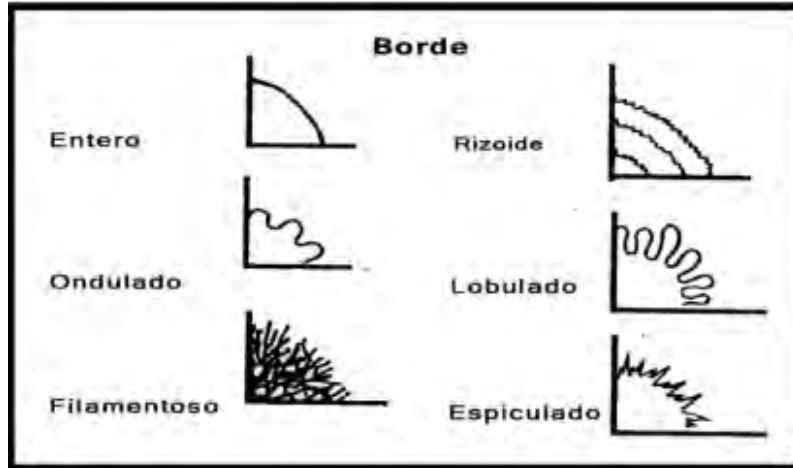


Fuente: Granados Pérez Raquel, Villaverde Peris María Carmen. Microbiología Tomo I Bacteriología. Características y clasificación bacteriana.⁵⁹

⁵⁸ GRANADOS P y VILLAVERDE P. MICROBIOLOGÍA TOMO I Bacteriología. Características y clasificación bacteriana. Virología. Características y técnicas bioquímicas, Plaza edición, Madrid, 2003. 249-260p. P. 19-21, Citado por MEDINA, Y. MESA, E. (2011). P. 19

⁵⁹ GRANADOS R y VILLAVERDE M. MICROBIOLOGÍA TOMO I Bacteriología. Características y clasificación bacteriana. Virología. Características y técnicas bioquímicas, Plaza edición, Madrid, 2003. 249-260p. P. 19-21, Citado por MEDINA, Y. MESA, E. (2011). P. 19

Figura 2. Borde de las colonias



Fuente: Granados Pérez Raquel, Villaverde Peris María Carmen. **Microbiología Tomo I Bacteriología. Características y clasificación bacteriana.**⁶⁰

3.3.9 Probióticos en acuicultura. En el uso de probióticos Kozasa et al,⁶¹ afirma que ha sido introducido en los últimos años en la acuicultura, la primera aplicación empírica en acuicultura es relativamente reciente, y ha permitido plantear alternativas para el manejo de enfermedades, entre los factores a tener en cuenta son:

- La selección de las cepas
- La estabilidad de las mismas que permita obtener una densidad efectiva.
- Mejorar la calidad del agua mencionado por Vaseeharan y Ramasamy⁶².
- Modificación de la microbiota intestinal competencia con bacterias causantes de enfermedades por sitios de adhesión, fuentes de energía y nutrientes afirmado por Irianto y Austin⁶³.
- Aumento de la resistencia a infecciones

La selección de cepas de bacterias como probióticos para la acuicultura es un proceso complejo ya que su efectividad depende del tipo de probiótico, modo y

⁶⁰ GRANADOS R y VILLAVARDE M. Madrid, 2003. P. 19-21.

⁶¹ KOZASA, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding, citado por GATESOUBE, F. Uso de Probióticos en Acuicultura, France.

⁶² VASEEHARAN, B y RAMASAMY, P. Control of pathogenic *Vibrio* spp. By *Bacillus subtilis* BT23, a posible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon* letters in Applied Microbiology, citado por RAMIRES, D, et al. Probióticos en acuicultura: Avances recientes del uso de levaduras en peces marinos, La Paz, México. 2008. P. 238 -250.

⁶³ IRIANTO, A y AUSTIN, B. Use of dead probiotic cells to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, citado por RAMIRES, D, et al. Probióticos en acuicultura: Avances recientes del uso de levaduras en peces marinos, La Paz, México. 2008. P. 238 -250.

cantidad de dosificación, especie hospedadora y fase de cultivo (larvario, alevinaje y engorde) en la que se encuentre y las condiciones ambientales de cultivo. Así mismo Ziortza⁶⁴, refiere, que los probióticos deben ser seleccionados para que de esta manera se minimicen los efectos provocados por las amplias diferencias entre los ambientes en los que se desarrollan los organismos.

Si bien el uso de antibióticos es el método más rápido para controlar este problema, al día de hoy, hay un creciente reconocimiento de sus limitaciones en la acuicultura, debido a que en algunos casos, más que proporcionar una solución, puede ocasionar efectos adversos en la salud del animal mediante la activación de la toxicidad, la resistencia antibiótica, producción de residuos, etc., dando lugar a graves consecuencias medioambientales, y en ciertas ocasiones, problemas en la salud pública⁶⁵; el uso de mezclas probióticas son más efectivas que las cepas independientes en el control de patógenos y en el mejor establecimiento de poblaciones probióticas, observándose procesos sinérgicos entre cepas que han potenciado los resultados deseados⁶⁶.

Por otro lado, Ziortza⁶⁷ menciona, que en general, para que los probióticos puedan ejercer su actividad, deben mantenerse viables a concentraciones elevadas en el lugar de acción. Sin embargo, la viabilidad microbiana se ve afectada por una serie de factores que, debido a la exposición a un medio acuícola, se ven más acentuados que en otras aplicaciones terrestres. De este modo, la aplicación de los probióticos en acuicultura está condicionada por las diferencias específicas de las especies de cultivo (ej. microbiota del tracto gastrointestinal) y las condiciones de cultivo de la misma (temperatura de cultivo, salinidad, pH, etc.).

La mayoría de las bacterias probióticas propuestas para el uso en acuicultura pertenecen a los géneros *Lactobacillus sp*, *Lactococcus sp*, *Leuconostoc sp*, *Enterococcus sp*, *Carnobacterium sp*, *Shewanella sp*, *Bacillus sp*, *Aeromonas sp*, *Vibrio sp*, *Enterobacter sp*, *Pseudomonas sp*, *Clostridium sp*, y algunas levaduras como *Saccharomyces sp*.

⁶⁴ ZIORTZA, Cruz. Aplicación de probióticos en el sector de la acuicultura: Desafíos y Perspectivas. España. 2013. P. 42-45.

⁶⁵ FAO. Estado mundial de la pesca y la acuicultura, citado por, SORROZA, L, et al. Uso de probióticos en acuicultura. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. 2011. P. 51-54.

⁶⁶ DOUILLET, P. Bacterial additives that consistently enhance rotifer growth under synxenic culture conditions 2. Use of single and multiple bacterial probiotics. Aquaculture, citado por, LOPEZ, B. CRUZ, L. Elaboración de un probiótico a base de microorganismos nativos y evaluación de su efecto benéfico al proceso digestivo de la tilapia roja (*Oreochromis spp.*) En etapa de engorde en la zona de santo domingo. Ecuador. 2011. P. 17.

⁶⁷ ZIORTZA, C, Op. cit. P. 42-45.

En cuanto a los principales beneficios de los probióticos en acuicultura, Kumar⁶⁸, menciona:

- Producción de compuestos inhibidores: las bacterias probióticas liberan una variedad de compuestos químicos que son inhibidores a bacterias gram-positivas y gram-negativas⁶⁹.
- Competencia por sitios de adhesión: organismos probióticos pueden competir con los patógenos para los sitios de adhesión y alimentos en la superficie epitelial del intestino y finalmente colonización⁷⁰.
- Competencia por nutrientes: los probióticos compiten para los nutrientes puede desempeñar un papel importante en la composición de la microbiota del tracto intestinal o ambiente de los organismos acuáticos cultivados⁷¹.
- Fuente de nutrientes y contribución enzimática a la digestión: algunas investigaciones han sugerido que los probióticos microorganismos tienen un efecto benéfico en el sistema digestivo, especialmente mediante el suministro de ácidos grasos y vitaminas⁷².
- Aumento de la respuesta inmune: el sistema inmunológico se ha demostrado que la administración oral de Clostridium bacterias del butyricum a la trucha arco iris realizó la resistencia de pescado a la vibriosis, aumentando la actividad fagocítica de leucocitos⁷³.
- Influencia en la calidad del agua: los probióticos también ayudan a mejorar la calidad del agua en los estanques de acuicultura. Esto se debe a la capacidad de las bacterias probióticas de participar en el volumen de de nutrientes orgánicos en los estanques⁷⁴.

⁶⁸ KUMAR, Maloy; SWARNAKUMAR, N.; SIVAKUMAR, K.; THANGARADJOU, T.; KANNAN, K. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

⁶⁹ SAURABH, S; CHOUDHARY A; SUSHMA, GS. Concept of probiotics in aquaculture, citado por, KUMAR, Maloy; et all. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

⁷⁰ VANBELLE, M; Teller, E; FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition: a review citado por, KUMAR, Maloy; et all. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 6.

⁷¹ RINGO, E & GATESOUBE, FJ. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture, citado por, KUMAR, Maloy; et all. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

⁷² HAGOPIAN, D & RILEY, G. A closer look at the bacteriology of nitrification, citado por, Kumar, MALOY; et all. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 6.

⁷³ SAKAI, M; YOSHIDA, T; KOBAYASHI, M. Enhancement of resistance to vibriosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) by oral administration of Clostridium butyricum bacteria, citado por, KUMAR, MALOY; et all. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

⁷⁴ SKJOLSTRUP J.; NIELSEN, P.; FRIER, J.; McLean, E. Performance characteristics of 16 fluidised bed biofilters in a novel laboratory-scale recirculation system for rainbow trout: 17 nitrification rates, oxygen consumption and sludge collection, citado por, Kumar, Maloy; et all. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

3.4 SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN ACUÍCOLA (RAS)

David⁷⁵ menciona que el éxito del cultivo de peces y en general de la producción acuícola depende esencialmente al control de los parámetros ambientales (físicoquímicos), de las etapas de desarrollo de cada especie, a medida que se avanza su comprensión se desarrollan a la par con la tecnología, que son más sofisticadas y deben ser bien comprendidas antes de iniciarse en el cultivo. Por su parte, Hernández, et al⁷⁶ describe que la evolución de los sistemas productivos en acuicultura, tienden a intensificar y mejorar eficiencia de la producción, aumentando cultivos amigables con el medio ambiente; los sistemas de recirculación en acuicultura proporcionan un medio de cultivo constante y monitoreable, con pocas y pequeñas variaciones. Los sistemas funcionan para controlar los distintos parámetros de calidad del agua, como la temperatura, el oxígeno, el nitrógeno y los patógenos; lo que contribuye con una producción más intensiva, fiable, limpia y al mismo tiempo con mayores beneficios económicos.

Así mismo Montaña⁷⁷, indica que un sistema de recirculación mantiene un ambiente favorable para el cultivo en la fase de alevinaje de trucha arcoíris mientras provee un adecuado crecimiento; una de las soluciones que han encontrado los acuicultores para disminuir altas mortalidades en esta fase crítica es el uso en efecto de un RAS. Igualmente García⁷⁸ afirma, que el ambiente controlado reduce el ataque de predadores externos al medio acuático, convirtiendo este tipo de sistemas en un ambiente seguro, por sus estructuras cerradas que permiten el control de un ambiente aéreo, además menciona que al agregar aire u oxígeno, para mantener niveles adecuados de O₂, se consiguen óptimas condiciones para controlar altas densidades de organismos por m³ de agua. Así pues, los RAS comúnmente requieren más capital que los sistemas acuícolas convencionales y dependen de una mayor productividad por unidad de volumen para que justifique la rentabilidad de la unidad de producción, debido a que se deben cubrir los niveles energéticos extras como generadores de energía y sistemas de aireación.

⁷⁵ DAVID, Carlos & CASTAÑEDA, German. Larvicultura de peces comerciales en sistemas de recirculación. Colombia. 2014. p. 71.

⁷⁶ HERNÁNDEZ, Cesar; AGUIRRE, Gabriel; LÓPEZ, David. Sistemas de producción de acuicultura con recirculación de agua para la región norte, noreste y noroeste de México. México. 2009. P.120.

⁷⁷ MONTAÑA, C, Op. Cit. p. 9.

⁷⁸ GARCIA, D. Evaluación de un sistema prototipo integral de cultivo de trucha con tratamiento y reciclado del efluente. Universidad Autónoma del Estado de México; Trabajo de grado, Ciencias del agua. México. 2008. P. 29.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 LOCALIZACIÓN.

El presente estudio se realizó en los laboratorios del programa de Ingeniería en Producción Acuícola de Universidad de Nariño (Figura 3), en la ciudad de San Juan de Pasto, que se encuentra en la región andina en el sur occidente de Colombia, a 1°12'52.48" de Latitud norte; 77°16'41.22" de longitud al meridiano de Greenwich, posee una temperatura promedio de 14 °C, altitud 2.527 metros sobre el nivel del mar, precipitación anual de 1180 milímetros y una humedad relativa de 75%⁷⁹.

Figura 3. Universidad de Nariño, Pasto - Nariño



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
- Papel vinipel

⁷⁹ OFICINA DE PLANEACIÓN, Universidad de Nariño. San Juan de Pasto.

- Papel craf
- Asas de vidrio y aluminio
- Puntas para micropipeta
- Mangueras para aireación diámetro 3/16"
- Piedras difusoras
- Tijeras
- Tarros plásticos
- 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 metrica
- Marcador indeleble
- Llaves de paso (1/2 pulgada)
- Pegante
- Segueta
- Gradilla
- Mortero
- Tubos Ependorf (1 ml)
- Acuario vidrio (120 litros)

4.2.2 Equipos.

- Balanza g
- Estufa
- Nevera
- Incubadora
- Cabina de flujo laminar
- Autoclave
- Espectofotometro
- Bortex Janke
- Blower
- Tranfer pipeta
- Computador portátil
- Cámara fotográfica
- Microscopio
- Sonda multiparámetros
- Cámara de recuento Neubaur
- Motobombas (110,150 y 180 watts)

4.2.3 Insumos.

- Probiótico Comercial
- Alimento Balanceado Truchina 50% 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 MRS (Man, Rogosa y Sharpe)
- Citocromo oxidasa
- Cinta amino-N-dimetil-anilina (Catalasa)
- Agua destilada
- Cepas de referencia bacteriana (*Bacillus sp*, *Lactobacillus cereus*)

4.3 MATERIAL BIOLÓGICO

La obtención de las cepas con posible potencial probiótico para la formación del consorcio microbiano se aislaron a partir del tracto digestivo de juveniles silvestres de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), provenientes de la quebrada La Esperanza (Figura 4) del Corregimiento de El Encano, Municipio de Pasto.

Figura 4. Extracción de alevinos Quebrada la Esperanza.



En la fase experimental se utilizó 1.000 alevinos de trucha con una talla promedio de 3 cm, provenientes de la estación piscícola Guamuez de la Universidad de Nariño.

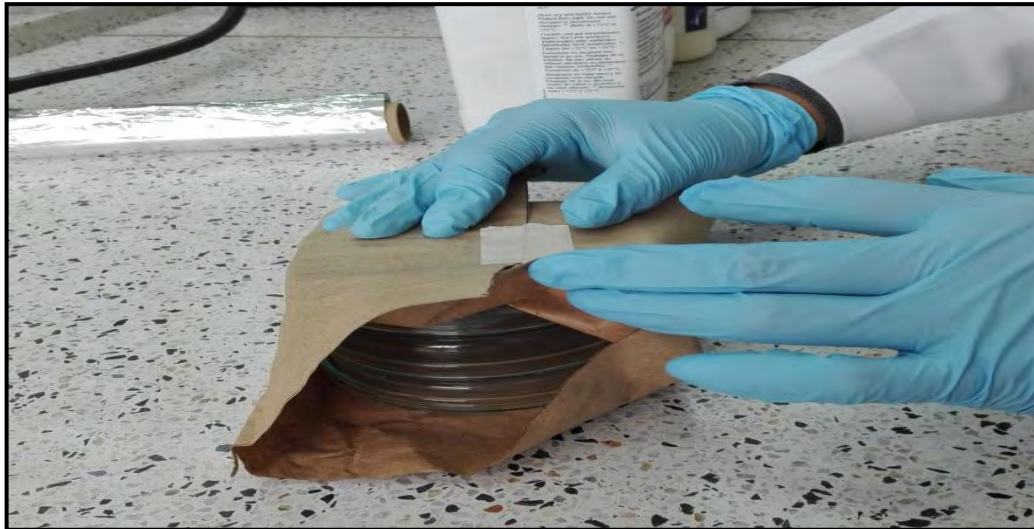
4.4 PERIODO DE ESTUDIO.

La investigación se realizó durante 7 meses tiempo en el cual se llevo a cabo el aislamiento de las cepas con potencial probiótico, adquisición del material biológico, periodo de adaptación, y fase experimental durante 60 días.

4.5 PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO.

Se efectuó la desinfección del área de laboratorio con hipoclorito de sodio comercial al 5,5% y esterilización del material de acuerdo al manual de bioseguridad de los laboratorios de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño (Figura 5).

Figura 5. Esterilización del material de vidriería



4.5.1 Obtención de las muestras. Las muestras se recolectaron de alevinos silvestres de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), que fueron empacados y transportados en bolsas plásticas calibre 24 con una proporción de agua-oxígeno 1:3, desde el Corregimiento del Encano hacia los laboratorios del programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño (Figura 6). Se seleccionaron los animales que presentaron características óptimas en cuanto a motricidad, morfología y sin enfermedades, se realizó un lavado superficial con agua destilada antes y después del sacrificio, de cuya masa biológica se extrajo 1g de intestino para el proceso de siembra. La muestra recolectada se maceró en un mortero previamente esterilizado hasta obtener una muestra homogénea

(Figura 7), se tomó 1 mL del preparado anterior para realizar 6 diluciones seriadas, con el fin de reducir el número de bacterias a aislar.

Figura 6. Recepción de alevinos.

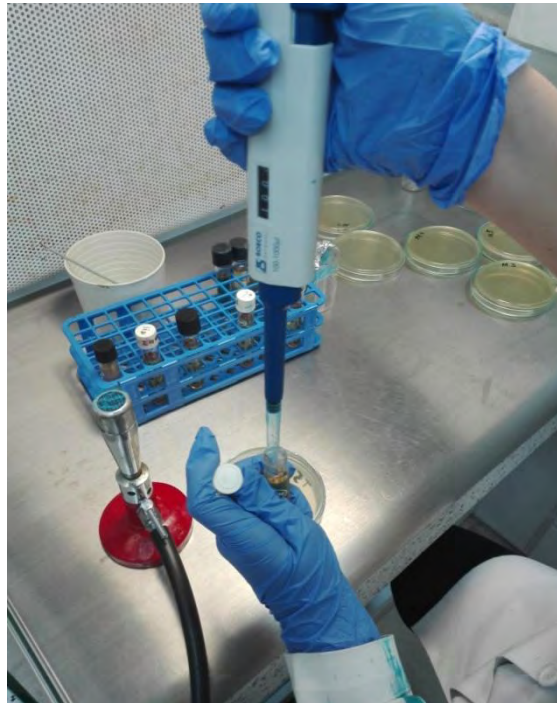


Figura 7. Extracción de 1g de material biológico.



4.5.2 Proceso de siembra. A partir de la muestra obtenida anteriormente, se realizó la siembra de un inóculo de 100µL, sobre la superficie de cajas petri, por duplicado, para aislar *Bacillus* y *Lactobacillus* respectivamente, con medio de cultivo TSB y agar MRS en diluciones seriadas, (Figura 8), las cuales se incubaron a 36°C durante 24 horas para bacterias *Bacillus* y 24 – 72 horas para *Lactobacillus*, con el fin de obtener colonias para su respectiva caracterización. A partir de las primeras siembras, se efectuó 5 resiembras sucesivas adicionales tomando las colonias más representativas por su morfología y frecuencia, con el fin de aislar e identificar dichas bacterias.

Figura 8. Inóculo y siembra de las bacterías.



4.5.3 Purificación e identificación de bacterias. Para la identificación presuntiva del género *Bacillus* sp (C1) y *Lactobacillus* sp (C2) se llevó a cabo el protocolo descrito por España⁸⁰.

Se observó las cepas sembradas, que presentaban características del género *Bacillus* y *Lactobacillus* (bordes irregulares, color blanco a crema, rugosas, y colonias grandes).

⁸⁰ ESPAÑA, A. Guía de Laboratorios de Microbiología. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Citado por ORTEGA, Lorena.; FUERTES, Karina. Evaluación de bacterias con potencial probiótico en la alimentación de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en el municipio de Tumaco, Colombia. 2014.

- Coloración de Gram: esta tinción se llevó a cabo empleando el protocolo anteriormente mencionado. una vez tomada la muestra del cultivo de bacterias con posible potencial probiótico y sometidas a la tinción de Gram se visualizaron en el microscopio.
- Siembra Mac Conkey: este medio se utilizó para el aislamiento de *Bacillus* Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Esta prueba se realizó con un inóculo de presuntas bacterias *Bacillus* y *Lactobacillus* sobre el medio de cultivo sólido mediante la técnica de sembrado por agotamiento.
- Prueba de endospora o tinción de Scheffer Fulton: en un portaobjetos se transfirió una cantidad de los cultivos bacterianos, se añadió verde de malaquita y frente a un mechero se llevó a fuego por 1 minuto esperando que el líquido generara vapores, se procedió a lavar la placa durante 30 segundos con abundante agua destilada, al instante se añadió safranina dejando actuar por 3 segundos, finalmente se enjuagó y secó y se procedió a observar las bacterias en el microscopio.
- Prueba de sulfuro indol motilidad SIM: esta prueba indica la movilidad de las bacterias, es decir si existe presencia de flagelos o por el contrario son inmóviles; a partir de una colonia de las presuntas bacterias (C1 y c2), se tomó un inóculo con un asa recta y se sembró en medio de cultivo SIM en el centro del tubo a 2/3 partes de profundidad a partir de la superficie del medio de cultivo. Estas muestras se dejaron incubar durante 24 horas a una temperatura de 35 a 37°C
 - Indol: a la prueba realizada anteriormente se adiciona una gota de reactivo de Kovac, que reacciona con el indol si es positivo se observa la presencia de un anillo de color rojo.
- Prueba de catalasa: este procedimiento identifica la presencia de bacterias aerobias o anaerobias por acción de la enzima catalasa presente en bacterias aerobias; una colonia de bacterias se tomó y se llevó a un portaobjetos, en ellos se agregó una gota de peróxido de hidrógeno a la espera de su reacción.
- Prueba de oxidasa: para esta prueba se usó tiras de papel con reactivo para amino-N-dimetil-anilina en ellas se depositó un inóculo de las bacterias objeto de estudio, se observó si la zona impregnada vira a un color azul-violeta, que determina que la reacción es positiva.

4.5.4 Conservación de cepas. Al tener certeza de las bacterias encontradas las cepas aisladas se conservaron en caldo MRS y TSB con 20% (p/v) de glicerol y fueron mantenidas a -20°C, con reactivación semanal para la realización de las diferentes pruebas (Figura 9).

Figura 9. Tubos ependorf con las cepas aisladas



4.5.5 Mediciones de crecimiento y conteo bacteriano. Se realizó una curva de crecimiento utilizando la técnica de espectrofotometría con una longitud de onda de 600 nm, indicando los tiempos de las fases que representan la curva: fase de adaptación, fase exponencial, fase estacionaria y declive o muerte, con este método se determinaron las concentraciones de unidades formadoras de colonias "UFC", mediante Conteo en Cámara Neubauer.

4.5.6 Comparación cepas obtenidas con cepas referencia. Las cepas obtenidas fueron comparadas con cepas de referencia *Bacillus sp* y *Lactobacillus casei* (Figura 10), provenientes del cepario microbiológico de la Universidad de Nariño. A las anteriores se les realizó las pruebas bioquímicas ya descritas en el acápite 4.5.3.

Figura 10. Cepas de referencia.

Lactobacillus casei

Bacillus sp



4.6. ADECUACIÓN DE INSTALACIONES

4.6.1 Construcción de Sistema de Recirculación Acuícola “RAS”.

Se utilizó 20 recipientes plásticos como acuarios, de medidas 32 x 23 cm, con tubería de PVC de entrada de agua de los acuarios de 1/2 pulgada y de salida hacia biofiltros de 3/4 de pulgada, con un único desagüe para todo el sistema, cada recipiente fue llenado con 23,8 litros de agua madura.

El RAS (Figura 11) utilizó dos biofiltros a base de grava, gravilla, arena y trozos de tubos PVC, en acuarios de 120 litros de capacidad. La recirculación de agua se llevó a cabo por medio de dos motobombas (150 y 180 watts); para evitar la filtración de animales por los desagües se instaló mayas plásticas. Se instaló un sistema de aireación con un blower, el cual distribuyó el aire por medio de una manguera plástica. Para mantener las bajas temperaturas se instaló un sistema de enfriamiento (nevera convencional, tubería de cobre, tubería de plástico y motobomba de 100 watts) tipo chiller artesanal, realizando resirculacion del agua contenida en uno de los filtros del RAS (Figura 12).

Figura 11. Sistema de recirculación acuícola.



Figura 12. Chiller artesanal.



El sistema de recirculación tiene un volumen total de 716 Litros, una velocidad de filtración de 0,15 litros por segundo y una capacidad de carga de 0,67 kg/m³.

4.7 MONITOREO DE ANIMALES

Para realizar el muestreo de los animales se utilizó nasas de pescar con las que se extrajeron 40 alevinos por tratamiento, este procedimiento se realizó semanalmente durante 2 meses (anexo A), en donde se registraron pesos, tallas y mortalidades, para facilitar la obtención de estos datos los animales fueron sometidos bajo efectos de un anestésico denominado eugenol durante 3 segundos, los animales fueron puestos en un recipiente de recuperación para ser regresados a sus respectivos acuarios como se muestra en la Figura 13.

Figura 13. Monitoreo de animales



4.8 INCORPORACIÓN DEL POSIBLE POTENCIAL PROBIÓTICO AISLADO AL ALIMENTO Y ALIMENTACIÓN

Para la incorporación de las bacterias con posible potencial probiótico *Bacillus* sp y *Lactobacillus* sp, se utilizó el alimento balanceado Truchina al 50% de proteína con un tamaño de partícula de 2 mm; previamente las bacterias se activaron sembrándolas en medio TSA (bacteria C1) y MRS (bacteria C2), pasadas 24 horas de incubación, se procedió a sembrar dichas bacterias en tubos de ensayo cada uno con caldo nutritivo TSA y MRS respectivamente, teniendo en cuenta la curva de crecimiento de cada una, con el fin de obtener las UFC/mL requeridas (2×10^4), estos tubos se sometieron a incubación durante 7 h y 24 h, a una temperatura de

38°C; transcurrido este tiempo se tomó el volumen pretendido del caldo que contiene el número de UFC/g requerido para cada tratamiento. Para incorporar el anterior compuesto al alimento balanceado se preparó una mezcla de dextrosa al 5% y almidón al 5% del peso total del alimento a suministrar, esta mezcla fue puesta a fuego lento hasta obtener un líquido gelatinoso, posteriormente se adicionó el caldo con bacterias y en bandejas previamente rotuladas, se agregó cada una de las mezclas respectivamente al alimento balanceado, se homogenizó y seco a 36°C durante 24 – 30 horas. La elaboración del posible Consorcio Microbiano se llevó a cabo agregando simultáneamente los caldos con las bacterias C1 y C2 al alimento en proporciones iguales. Los animales en cada una de las unidades experimentales (20 UE) se alimentaron 3 veces al día. Dichos alimentos se prepararon cada 3 días.

4.9 INCORPORACIÓN DEL PROBIÓTICO COMERCIAL AL ALIMENTO.

El probiótico comercial utilizado, es una mezcla natural de organismos beneficiosos como *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus amyloliquefaciens* este producto fue aplicado directamente al alimento y suministrado inmediatamente a los animales del tratamiento respectivo, ya que, la duración máxima del alimento con la mezcla preparada no debe superar las 6 horas.

4.10 MONITOREO DE PARÁMETROS.

Diariamente se tomaron datos de parámetros físico-químicos del agua, entre ellos: temperatura, oxígeno disuelto y pH, según el comportamiento de estos se realizó recambios de agua semanalmente para controlar aumentos de pH y sólidos suspendidos que afectan la calidad del agua. Para controlar cantidades altas de sólidos suspendidos se realizó un sifoneo diario de desechos de heces y alimento sobrante de cada unidad experimental.

4.11 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico se aplicó a un diseño experimental completamente aleatorio (DCA); en el que se evaluó (5) tratamientos cada uno con 4 réplicas, para un total de 20 unidades experimentales, el modelo matemático que representa a este diseño, es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{j(i)}$$

Donde;

Y_{ij} = Variable respuesta

μ = Media general del experimento

t_i = Efecto del j-esimo tratamiento

$\epsilon_{j(i)}$ = Error experimental asociado a la j-esima unidad experimental que recibe el i-esimo tratamiento

Para la determinación de diferencias significativas entre tratamientos se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y prueba de TUKEY, uno para cada una de las variables a evaluar

• **Tratamientos.** Se evaluó 5 tratamiento con 4 réplicas en las cuales se utilizó 1000 alevinos, 50 por réplica.

La concentración de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Bacillus sp* y *Lactobacillus sp* fue de un mínimo de 200000 por mL como se describe en la Tabla 1.

Tabla 1. 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</i> 200000 UFC
Tratamiento 4	Alimento de <i>Lactobacillus</i> + <i>Bacillus sp</i> con 200000 UFC

• **Formulación de hipótesis.**

Hipótesis nula (Ho). No existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos

$$H_0: \mu T_0 = \mu T_1 = \mu T_2 = \mu T_3 = \mu T_4$$

Hipótesis alterna (H1). A menos la media de uno de los tratamientos será diferente

$$H_1: \mu T_0 \neq \mu T_1 \neq \mu T_2 \neq \mu T_3 \neq \mu T_4$$

• **Variables a evaluar:** los parámetros zootécnicos a evaluar son:

- Incremento de peso semanal (IPS): con el cual se mide en gramos (g) el incremento de peso con relación a la semana inmediatamente anterior.

$$IPS = FP - IP$$

Donde;

IPS= Incremento Peso semanal

FP= Peso final

IP= Peso inicial

- Incremento de talla semanal (ITS): con el cual se mide en centímetros (cm) el incremento de peso con relación a la semana inmediatamente anterior.

$$ITS = FL - IL$$

Donde;

IPS= Incremento talla semanal

FP= Longitud final

IP= Longitud inicial

- Porcentaje de Supervivencia (% S): calcula la mortalidad en porcentaje.

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

Donde;

%sS= porcentaje de supervivencia

NF= Número de individuos sobrevivientes al final del periodo de estudio

NI= Número inicial de individuos en el periodo de estudio.

• **Relación beneficio/costo (RBC):** permite referenciar si una producción es aceptable o no, desde el punto de vista técnico, utilizando un indicador (1.0) que expresa el nivel de rentabilidad como se indica a continuación

B/C > 1, aconsejable

B/C = 1, indiferente

B/C < 1, no es aconsejable

5. RESULTADOS

5.1 PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE LAS CEPAS CON POSIBLE POTENCIAL PROBIÓTICO

Los resultados de la cepa C1 se presentan en Tabla 2 y Anexo B observando una tinción de gram, positiva, con *bacillos* alargados; tinción de endospora positiva, catalasa positiva, oxidasa negativa, prueba de motilidad positiva, producción de indol y sulfuro negativa, y la prueba de Mac Conkey negativa, estas pruebas son respaldadas por Ochoa et al⁸¹, donde menciona que las pruebas físico-químicas realizadas son suficiente para afirmar que es un *Bacillus sp.*

Tabla 2. Resultados bioquímicos cepa 1.

Pruebas Bioquímicas	Positivo	Negativo
Tinción de Gram	+	
Tinción de endospora	+	
Catalasa	+	
Oxidasa		-
SIM	Sulfuro	-
	Indol	-
	Motilidad	+
Mac Conkey		-

Las pruebas bioquímicas para C2 se presentan Tabla 3 y Anexo C presentó producción positiva de ácido a partir de glucosa y lactosa (Agar MRS), tinción de Gram positiva, catalasa y oxidasa negativos, producción de indol negativo y de hidrógeno negativos, tinción de endospora negativa, y Mac Conkey negativa; los anteriores resultados son respaldados por Moreno⁸² y Rodriguez⁸³, donde afirman en sus investigaciones que pruebas realizadas con criterios morfológico y bioquímico son suficientes para la identificación de las bacterias evaluadas, refutan que, pertenece el género *Lactobacillus sp* con potenciales probióticos al igual que en el presente estudio.

⁸¹ OCHOA, J; OLMOS, J. The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. Food microbiology, 2006, vol. 23. P. 520-230.

⁸² MORENO, Lizeth. Aislamiento y Selección de *LactoBacillus sp* con potencial probiótico a partir de pan de abejas. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias. Colombia. 2012. P. 115.

⁸³ RODRIGUEZ, Icela; SALAZAR, Marco & VILLALOBOS, Eduar. *LactoBacillus spp.* del tracto intestinal de Gallus gallus con potencial probiótico. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2012. P. 67

Tabla 3. Resultado pruebas bioquímicas cepa 2.

Pruebas Bioquímicas		Positivo	Negativo
Tinción de Gram		+	
Tinción de endospora			-
Catalasa			-
Oxidasa			-
SIM	Sulfuro		-
	Indol		-
	Motilidad		-
Mac Conkey			-

5.2 Pruebas bioquímicas de las cepas de referencia.

Para tener certeza de que las cepas aisladas sean *Bacillus* y *Lactobacillus*, se realizaron pruebas bioquímicas con cepas de referencia (Tabla 4), *Bacillus* sp y *Lactobacillus casei*, tomadas del cepario de la universidad de Nariño, dando resultados similares.

Tabla 4. Resultados pruebas bioquímicas cepas de referencia.

Pruebas Bioquímicas	<i>Bacillus sp.</i>		<i>Lactobacillus Casei</i>	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Tinción de Gram	+		+	
Tinción de endospora	+			-
Catalasa	+			-
Oxidasa	+			-
SIM	Sulfuro		-	-
	Indol		-	-
	Motilidad	+		-
Mac Conkey		-		-

5.3 Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y curva de crecimiento.

En la Tabla 5 se indican los resultados de las diluciones seriadas para determinar la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC), para ello se terminó 24 horas de haber sembrado la muestra. Las colonias *Bacillus* presentan una morfología (Figura 14), circular, con bordes enteros, presenta una elevación de la colonia convexa, su consistencia es membranosa, su coloración es blanca opaca

(no permite el paso de la luz), la luz que refleja al observar la superficie de la colonia es opaca; para las colonias Lacticas presentan una forma (Figura 15): puntiforme, con bordes enteros, presenta una elevación convexa, superficie pegada, consistencia cremosa, su coloración beige opaca, además refleja una luz brillante.

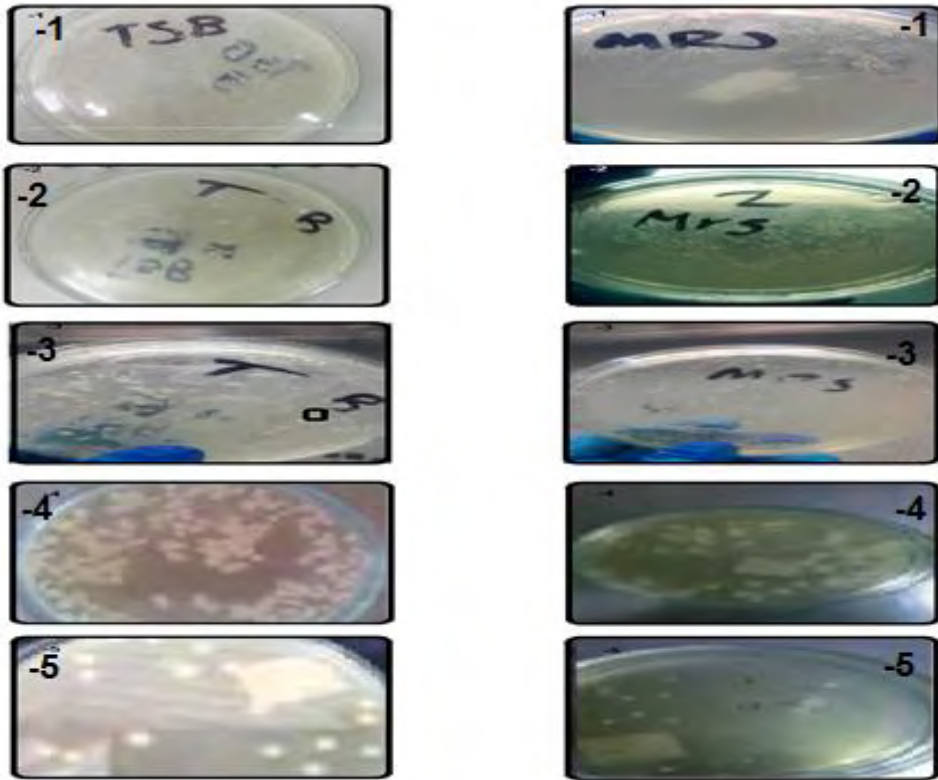
Tabla 2. Conteo de unidades formadoras de colonias (UFC).

Incubación durante 24 horas		
Dilucion	<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
10 ¹	>200	>200
10 ²	>200	>200
10 ³	158 * 10 ³	120 * 10 ³
10 ⁴	97 * 10 ⁴	74 * 10 ⁴
10 ⁵	46 * 10 ⁵	32 * 10 ⁵

Figura 1414. Cultivo *Bacillus* sp

sp

Figura 15. Cultivo *Lactobacillus*



Los resultados de las mediciones del crecimiento bacteriano se indican en las Figuras 16 y 17, donde se observa la fase de adaptación, fase exponencial y estacionaria de la cepa *Bacillus sp* y *Lactobacillus sp* respectivamente.

Figura 16. Curva de crecimiento bacteriano *Bacillus sp*.

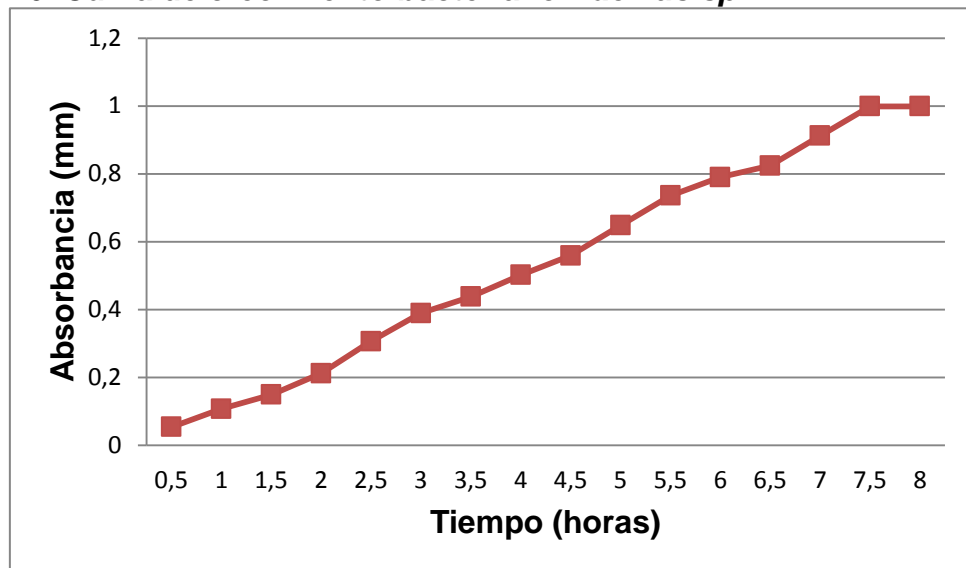
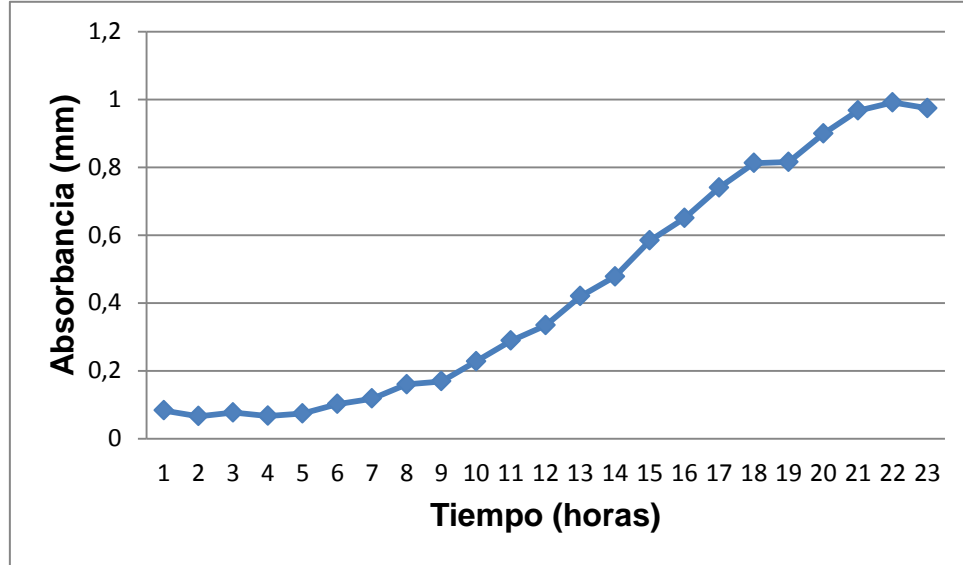


Figura 17. Curva de crecimiento bacteriano *Lactobacillus sp*.



5.4 ANÁLISIS DATOS ESTADÍSTICOS.

Mediante un análisis de varianza se evaluó los datos de peso y talla inicial, para poder concluir que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel de confianza del 95,0% (Anexo D).

5.4.1 Incremento de peso semanal. En la Figura 18 y Tabla 6 se muestra el incremento de peso semanal de cada uno de los tratamientos, al realizar el análisis de varianza se observó que el crecimiento de los animales no presenta diferencias significativas durante las primeras 4 semanas de alimentación (Anexo E), a partir de esta semana se muestran diferencias entre tratamientos, puesto que el valor-P de la prueba-F es mayor que 0.05. Por lo cual se procede a realizar la prueba de rangos múltiples (Tukey) (Anexo F), de acuerdo con esta prueba T0, T1 y T2, presentan un incremento homogéneo, con pesos de 5,65g, 5,97g y 5,77g respectivamente y presentan diferencias con T3 con un peso de 6.38, por otra parte el tratamiento T4 con peso 7.42g presentó una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los demás tratamientos.

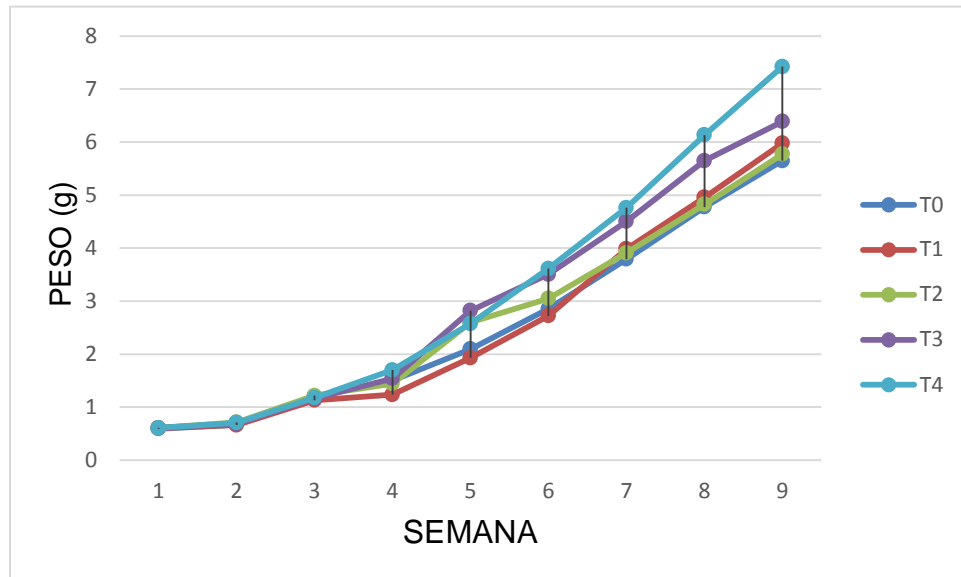
Tabla 3. Incremento de peso (g) semanal por tratamiento.

TRATAMIENTO	SEMANAS								
T0	0.563	0.671	1.197	1.501	2.095	2.854	3.792	4.778	5.650 XX
T1	0.606	0.664	1.130	1.237	1.932	2.724	3.986	4.957	5.978 XX
T2	0.609	0.715	1.219	1.445	2.601	3.052	3.910	4.824	5.771

										XX
T3	0.609	0.686	1.164	1.540	2.822	3.506	4.505	5.650	6.387	Xx
T4	0.609	0.707	1.179	1.701	2.576	3.614	4.761	6.135	7.424	X

X Diferencias Significativas
 XX Medias Homogéneas

Figura 18. Incremento de peso semanal.



5.4.2 Incremento de talla semanal. Mediante un análisis de varianza se evaluó el incremento de talla semanal (Tabla 7), presentando diferencias significativas entre tratamientos, (Anexo G), por lo cual se procedió a realizar la prueba de rangos múltiples (Tukey), con el fin de establecer diferencias estadísticas entre tratamientos; los tratamientos T0, T1 y T2 datos homogéneos con tallas de 7.73cm, 7.82cm y 7.82cm respectivamente, al igual que entre los tratamientos T3 con 8.31cm y T4 con 8.50cm; pero presentan diferencias significativas entre estos dos grupos (Figura 19).

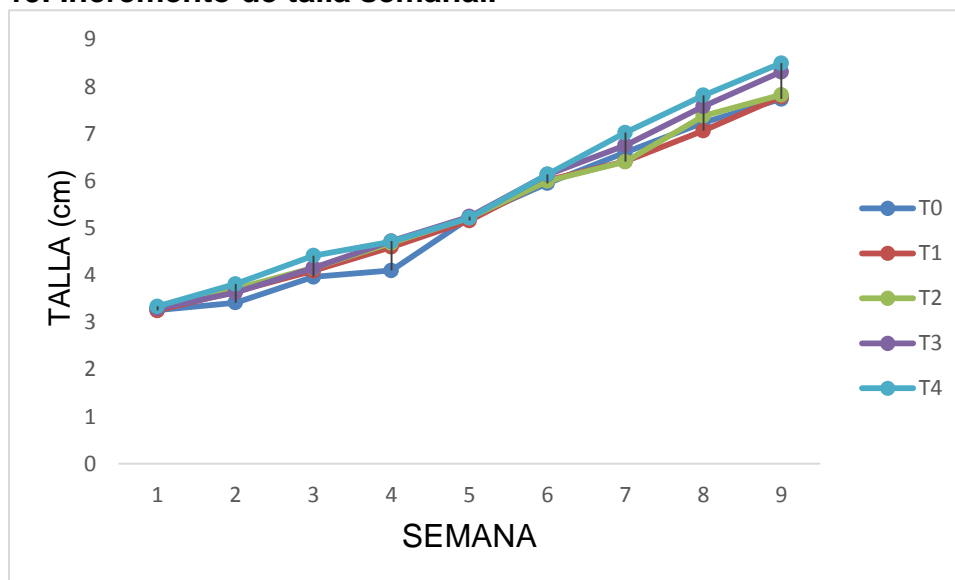
Tabla 4. Incremento de talla semanal por tratamiento

TRATAMIENTOS	SEMANAS								
T0	3.25	3.41	3.96	4.09	5.21	5.95	6.60	7.23	7.73
	9	6	4	9	3	0	8	8	9 XX
T1	3.25	3.65	4.09	4.60	5.16	6.02	6.41	7.06	7.78
	3	1	2	1	0	0	7	9	8 XX
T2	3.30	3.71	4.15	4.68	5.21	5.99	6.41	7.38	7.82
	8	5	4	5	9	8	0	2	7 XX
T3	3.29	3.63	4.15	4.72	5.24	6.13	6.75	7.58	8.31
	5	4	9	4	6	4	7	5	8 X
T4	3.34	3.81	4.41	4.71	5.21	6.14	7.02	7.81	8.50
	1	4	4	4	7	2	8	7	1 X

X Diferencias Significativas

XX Medias Homogéneas

Figura 19. Incremento de talla semanal.



5.4.3 SUPERVIVENCIA. Al realizar un análisis de varianza se estableció que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza (Anexo H), encontrando un porcentaje de supervivencia mayor en el T4= 91%, seguido por T0=85.5% T2= 84.5%, T3= 82% y T1= 77% (Tabla 8).

Tabla 5. Porcentaje de supervivencia en los tratamientos durante la investigación.

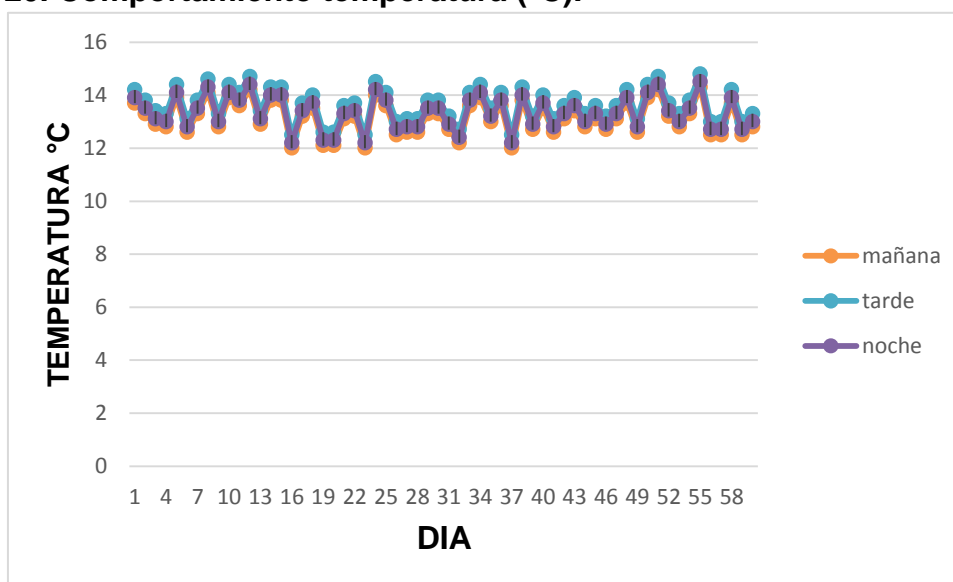
Tratamiento	Número de animales inicial	Número de animales final	Mortalidad	Supervivencia (%)
TO	200	171	29	85.5
T1	200	154	46	77
T2	200	169	31	84.5
T3	200	164	36	82
T4	200	182	18	91

5.5 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DEL AGUA.

Se monitoreó diariamente, Temperatura (Anexo I), oxígeno disuelto (Anexo J) y potencial de hidrógeno pH (Anexo K), el trabajo fue realizado en un sistema de recirculación acuícola, por consiguiente todas las unidades tenían los mismos parámetros.

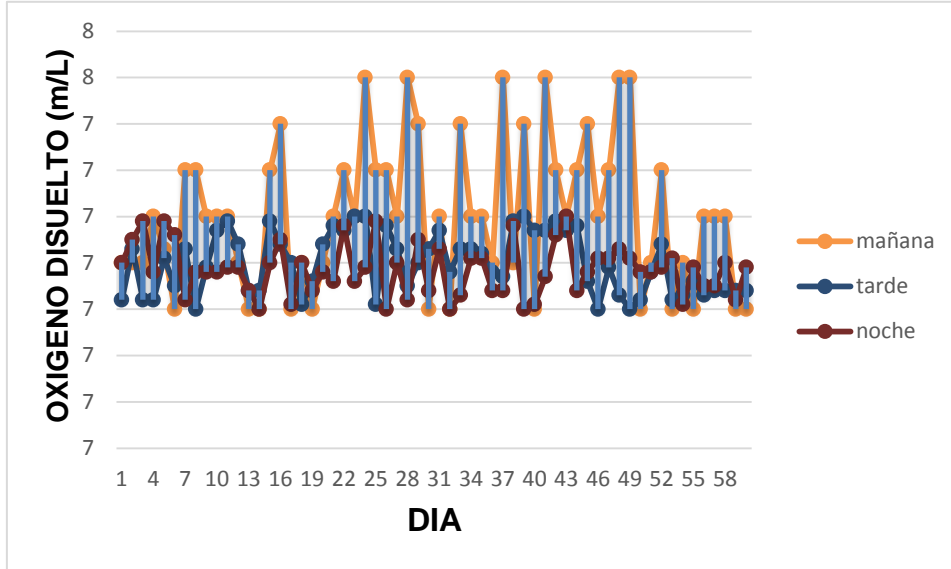
5.5.1 Temperatura. El comportamiento de la temperatura durante el periodo de estudio fluctuó de 12 a 14.5°C con un promedio de 13,3°C como se representa en la Figura 20.

Figura 20. Comportamiento temperatura (°C).



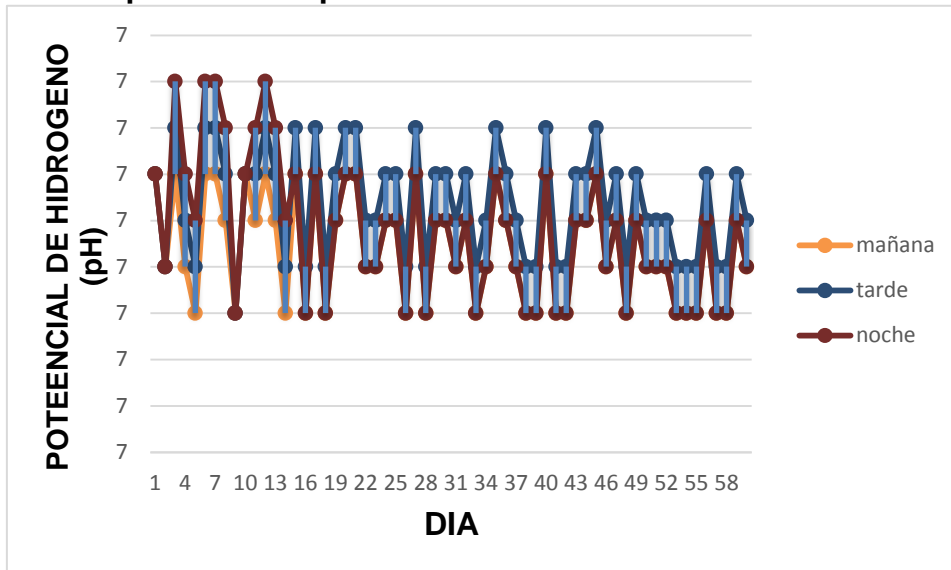
5.5.2 Oxígeno disuelto. El comportamiento del oxígeno disuelto durante el periodo de estudio fluctuó de 7 a 7,41 mg/L con un promedio de 7,1, como se representa en la Figura 21.

Figura 21. Comportamiento Oxígeno disuelto



5.5.3 Potencial de Hidrógeno (pH). El comportamiento del pH durante el periodo de estudio fluctuó de 7,05 a 7, con un promedio de 7,01 como se representa en la Figura 22.

Figura 22. Comportamiento pH



5.6 RELACIÓN BENEFICIO/COSTO.

Los mayores costos fueron generados por la compra de animales que representa un 34,41%, seguido de la construcción del RAS con un 23,02%, la adquisición del Probiótico comercial con 20,65% y la elaboración del sistema de enfriamiento Chiller artesanal con el mismo porcentaje, como se muestra en la Tabla 9, los costos de la investigación generaron una inversión parcial de \$581.200

Tabla 6. Costos parciales

RUBROS	CANTIDAD	COSTOS UNITARIO (\$)	TOTAL (\$)	(%)
Animales	1000	200	200000	34,41
Concentrado comercial (Kg)	1	5000	5000	0,86
Probiótico Comercial (L)	1	120000	120000	20,65
Bolsas plásticas	4	600	2400	0,41
Manguera aireación (m)	5	5000	25000	4,30
Tubo PVC 1"	1	18000	18000	3,10
Tubo PVC 1/2"	2	10000	20000	3,44
Codos 1/2"	15	200	3000	0,52
T PVC 1"	5	1000	5000	0,86
T PVC 1/2"	10	200	2000	0,34
Llaves de paso	20	2500	50000	8,60
Limpiador PVC	1	3000	3000	0,52
Pegante PVC	1	5000	5000	0,86
Cinta teflón	4	700	2800	0,48
Tubería de cobre (m)	15	8000	120000	20,65
TOTAL			581200	100

Para el análisis de esta variable, se consideró, el costo de alevinos de trucha arcoíris, el alimento comercial, probiótico comercial, y demás elementos para los diferentes tratamientos y se determinó la relación beneficio-costo. La mejor relación en cuanto a beneficio-costo se registró en el tratamiento T4, indicando que por unidad monetaria invertida se obtienen 1,38 pesos de ingreso, además de presentarse una mayor supervivencia reflejada así, en una mayor rentabilidad en comparación con los demás tratamientos como se indica en la Tabla 10.

Tabla 7. Beneficio / Costos

Tratamiento	Costo Total (\$)	Numero Animales	Precio Venta (\$)	Ingreso Bruto (\$)	Ingreso Neto (\$)	Beneficio/ Costo
T0	65619	171	500	85500	19881	1,30
T1	65865,7	154	500	77000	11134,3	1,17
T2	65667,65	169	500	84500	18832,35	1,29
T3	65791,15	164	500	82000	16208,85	1,25
T4	65907,3	182	500	91000	25092,7	1,38

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 INCREMENTO DE PESO SEMANAL

Uno de los parámetros zootécnicos de mayor importancia en producción animal lo constituye el incremento de peso, el cual en cultivos acuícolas es afectado por diferentes factores tales como, calidad del agua, estado sanitario de los animales, una adecuada digestión y absorción de nutrientes, entre otros; estos parámetros son susceptibles de mejorar con tecnologías modernas tal como la utilización de bacterias potencialmente probióticas, es así como, en esta investigación se demostró que la utilización del posible consorcio microbiano *Bacillus sp* y *Lactobacillus sp* a una concentración de 2×10^4 UFC, mejoró significativamente con un porcentaje mayor al 23,87% el incremento de peso de alevinos de trucha arcoíris; efecto que podría atribuirse a su alta capacidad de adhesión y afinidad al epitelio del tracto gastrointestinal de la trucha.

Con relación a lo anterior, Sica⁸⁴ reporta en su investigación, que al suministrar bacterias probióticas como *Lactobacillus paracasei*, en cultivos acuícolas de trucha arcoíris, se observó un efecto benéfico relacionado con su capacidad de actuar como agentes de control biológico, mediante la producción de sustancias metabólicas con actividad antagónica frente a microorganismos patógenos, promoviendo el crecimiento y comportamiento zootécnico adecuado de esta especie.

De igual manera, Wang⁸⁵ y Gutierrez⁸⁶, manifiestan que al aislar bacterias de los géneros *Bacillus sp* y *Lactobacillus* del tracto digestivo de un pez, para la alimentación del mismo, confirieron mayores beneficios en su biometría, al ser comparados con probióticos comerciales aislados del ser humano y otros mamíferos, resultados que se asemejan a los datos obtenidos en esta investigación donde el probiótico comercial tuvo un crecimiento menor al aislado, y masificado del tracto digestivo de la trucha arcoíris.

Por su parte, diferentes autores como, Palacios⁸⁷, Gutierrez et al⁸⁸, y Calero et al⁸⁹, también afirman que, el incremento de peso en peces alimentados con

⁸⁴ SICA, M. Bacterias lácticas del estuario de Bahía Blanca. Evaluación de sus propiedades probióticas para su potencial uso en cultivo de trucha arcoíris (*Ocorhynchus mykiss*). Argentina, Bahía Blanca. 2013. p. 54.

⁸⁵ WANG, Y. XU, Ziron. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal Science College, The Key Laboratory of Molecular Animal Nutrition, Zhejiang University, Zhejiang, China. 2005. p. 283 – 290.

⁸⁶ GUTIÉRREZ, L. 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. Colombia. 2016. p. 70 – 92.

⁸⁷ PALACIOS, P. Evaluación comparativa de dos estimulantes de crecimiento tipo probiótico y el prebiótico en el levante y ceba de sábalo amazónico (*Brycon melanopterus cope*, 1872), en el centro experimental

probióticos tienen un mejor desempeño que en las dietas normales, debido al suministro continuo de bacterias benéficas, demostrando su capacidad de acción en el tracto gastrointestinal al utilizar probióticos con una concentración de 3×10^5 UFC.

Los anterior demuestra, el efecto benéfico del uso de probióticos en trucha arcoíris y más aun del uso de consorcios bacterianos autóctonos sin embargo es necesario tener en cuenta lo afirmado por, Balan & Martínez⁹⁰, quien menciona que el crecimiento de los peces bajo condiciones de laboratorio, en acuarios de tamaño pequeño no tienen tan alto rendimiento como los que se podría observar en condiciones reales de cultivo (estanques en tierra, estanques de plástico o de concreto, jaulas flotantes).

6.2 INCREMENTO DE TALLA SEMANAL

En esta investigación los resultados permiten determinar que para obtener mayores tallas en la fase de alevinaje de trucha arcoíris, la adición de sustancias probióticas en el alimento, mejora ostensiblemente en 8.96% este parámetro, por lo cual es oportuno mencionar los datos reportados por Lara et al⁹¹, quienes mencionan que, los alevines alimentados con dietas acompañadas de bacterias probióticas, presentaron un mayor crecimiento que aquellos alimentados con dieta tradicional, observando diferencias estadísticamente significativas en los diferentes tratamientos evaluados.

Con relación a lo anterior Díaz et al⁹² y Gutiérrez et al⁹³, reportan que la presencia de microorganismos probióticos y levaduras en la dieta, estimulan la ganancia de

amazónico, Colombia. Trabajo de grado (Ingeniería en producción Acuícola). Universidad de Nariño. 2007. p 102.

⁸⁸GUTIERREZ, L; DAVID, C; MONTOYA, I; BETANCUR. E. Effect of dietary inclusion of microencapsulated probiotics on some zootechnical parameters in red tilapia fingerlings (*Oreochromis sp.*). Rev Salud Anim., La Habana, v. 38, n. 2, p. 112-119, agosto 2016. Disponible en <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2016000200007&lng=es&nrm=iso>

⁸⁹ CALERO, M; VILLAVICENCIO, J. Evaluación del efecto del probiótico comercial Bio-Probiotic,CO en el ciclo productivo de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado Universidad las americas, Santiago de Chile. 2016. p. 50- 60.

⁹⁰ BELAN, T; MARTINEZ, D. Uso de Microorganismos Eficientes (EM) en la Alimentación de la Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Trabajo de Grado, Universidad EARTH, Guatemala. 2007. p. 40- 50.

⁹¹ LARA, M; OLIVERA, L; OLVERA, M. Effect of the inclusion of a bacterial mix (*Streptococcus faecium* and *LactoBacillus acidophilus*), and the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth, feed utilization and intestinal enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN-Unidad Mérida, México. 2010. p. 95

⁹² DIAZ, C; MEDINA, A. VILLAMIZAR, A; PALENCIA, D. Efecto de un suplemento líquido a base de *Saccharomyces cerevisiae* y *LactoBacillus casei* para la alimentación de mojarra roja (*Oreochromis sp*) en etapa de alevinaje y precria. Rev, Universidad Santander, Colombia. 2014. p. 90.

peso, talla de los animales y menor tiempo de producción; a diferencia de Calero et al⁹⁴, que evaluaron la inserción de microorganismos benéficos (probiótico comercial), sobre el crecimiento de trucha arcoíris durante un periodo de 6 meses, donde el resultado fue que no existen diferencias significativas porque el valor P es mayor a 0.05 pero si presentaron una talla superior para las tinas que se aplicó probiótico.

6.3 SUPERVIVENCIA

Al realizar el análisis de varianza este parámetro presento que no posee diferencias significativas ($p > 0.05$), en la Figura 23 se puede ver que el T0 presentó resultados similares comparado con T2 y T3, sin embargo es necesario resaltar que el uso del posible consorcio microbiano T4 (*Lactobacillus sp* y *Bacillus sp*) incrementó la supervivencia en un 91% en fase de alevinaje de trucha arcoíris a una concentración de 2×10^5 UFC/ml, similar al trabajo de Campa, et al⁹⁵, donde se menciona que la supervivencia larvaria de *Crassostrea Corteziensis* cultivadas durante nueve días alimentadas con *Lactobacillus* con una concentración de 1×10^4 UFC/ml presenta mayor supervivencia que en la alimentación sin probiótico.

Las evidentes ventajas del uso de probióticos vienen siendo investigadas por, Díaz et al⁹⁶, quien también obtuvo resultados positivos al suministrar alimento, en alevines de mojarra roja (*Oreochromis sp*), compuesto por una dieta con suplemento líquido (probiótico y levadura) generando tasas de sobrevivencia mayores al 90 %.

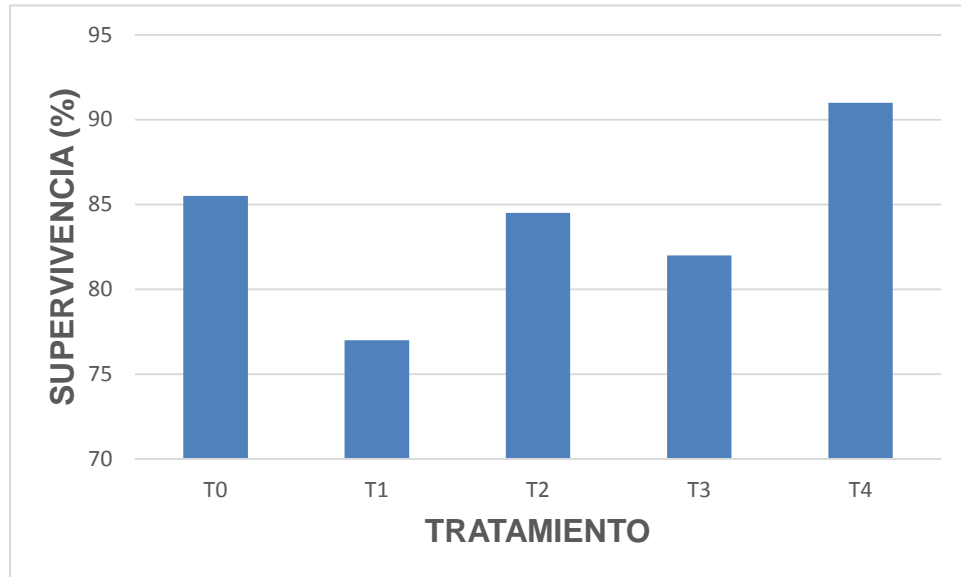
⁹³ GUTIÉRREZ, L; DAVID, C; MONTOYA, O; GONZALES, E. Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). Investigación en Producción, desarrollo y transformación agropecuaria, Colombia. 2016. p. 114- 121.

⁹⁴ CALERO, M; VILLAVICENCIO, J. Evaluación del efecto del probiótico comercial Bio-Probiotic,CO en el ciclo productivo de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado Universidad las americas, Santiago de Chile. 2016. p. 50- 60.

⁹⁵ CAMPA, A; LUNA, A; MAZON, J; AGUIRRE, G; ASCENCIO, F; GONZALES, H. Effect of probiotic bacteria on survival and growth of Cortez oyster larvae, *Crassostrea corteziensis* (Bivalvia: Ostreidae). Centro de investigaciones biológicas de noroeste. Mexico. 2010. p 8.

⁹⁶ DÍAZ, C; MEDINA, A. VILLAMIZAR, A; PALENCIA, D, Op. cit. p. 90.

Figura 2315. Porcentaje Supervivencia



Castro et al⁹⁷, en su trabajo de investigación observaron que usar probiótico *Lactobacillus* y *Bacillus*, aislado de peces, tienen mayor beneficio que utilizar probiótico comercial; al igual que en trabajos realizados por Aput et al⁹⁸, en los que suplementaron una dieta de peces con *Bacillus* esporulados y *Lactobacillus* observando mejores crecimiento y supervivencia, los autores sugieren que estos microorganismos son aditivos que estimulan el crecimiento en el cultivo de peces.

Por otro lado la presencia del probiótico evaluado *Bacillus sp* y *Lactobacillus sp*, mejoran la supervivencia de alevinos de trucha arcoíris debido a que a la hora de administrar el probiótico esta bacteria se convierte en dominante y capaz de colonizar los ambientes tanto en la columna de agua como en el tracto digestivo de la trucha arcoíris, Rengpipat et al⁹⁹ alude que además puede remplazar bacterias como el *Vibrio spp* aumentando así la supervivencia en trucha, dichas bacterias compiten por nutrientes y espacio a la vez pueden excluir otras bacterias de la producción de antibióticos.

⁹⁷ CASTRO, T; MONROY, M; CASTRO, J; ANDRADE, R; CASTRO, G. Efecto de cuatro probióticos en el crecimiento y la sobrevivencia de *Carassius auratus*. Ciencia Pesquera. Vol, 19; 2011. p. 24.

⁹⁸ APÚN, JP; SANTAMARÍA, A; GONZÁLEZ, A; MARTÍNEZ, SF; Rojas, M. Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and suboptimum temperature. Aquac Res. Mexico. 2010. p. 20.

⁹⁹ RENGPIPAT, S.; RUKPRATANPORN, S.; PIYATIRATITIVORAKUL, S.; MENASVETA, P. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University. Thailand. 1998.

Además Gullian et al¹⁰⁰ manifiesta que diversas investigaciones han demostrado que la presencia de bacterias probióticas mejoran la calidad de agua; por cuanto a las bacterias Gram positivas son buenas metabolizando la materia orgánica. El ciclo productivo del estanque, la presencia de altas niveles de estas bacterias pueden minimizar las partículas del carbono orgánico. Los mismos autores, concretamente han reportado que el uso de probióticos mejoran la calidad de agua, la supervivencia y el estado de salud de la trucha arcoíris.

Por último Verschuere et al, citado por Saldaña¹⁰¹, atribuye que en su estudio presenta mayores resultados de supervivencia, al implementar probióticos en la alimentación de trucha arcoíris; del mismo modo Gatesoupe¹⁰², el cual menciona, que en todos los casos la adición de *Lactobacillus* sp. incrementa la supervivencia significativamente; este efecto lo observo cuando logro mejorar la supervivencia de larvas *Scophthalmus maximus* al administrarles bacterias ácido lácticas.

6.4 PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL AGUA

6.4.1 Temperatura. A óptimas temperaturas el crecimiento de peces es rápido, convierten el alimento eficientemente, y son relativamente más resistentes a varias enfermedades, así lo describe Montaña¹⁰³. Por su parte estudios de Martínez et al¹⁰⁴ menciona que las truchas tardan en alcanzar el peso comercial con una temperatura de 9,1 °C, que a una temperatura de 12,1 °C, resultado que está entre los encontrados en este trabajo en donde se obtuvo una temperatura promedio de 13,3 °C.

6.4.2 Oxígeno disuelto. Salazar, citado por Montaña¹⁰⁵, refiere que el nivel de oxígeno disuelto presente en un sistema de acuicultura es el parámetro más

¹⁰⁰ GULLIAN, M; THOMPSON, F; RODRIGUEZ, J. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas, P.O. Ecuador. 2003. p. 7 -14.

¹⁰¹ SALDAÑA, G. Efecto de dietas con diferentes concentraciones de *Lactobacillus* sp. enriquecido con proteína hidrolizada de vísceras de *Argopecten purpuratus*, sobre el crecimiento y supervivencia de alevines de *Oreochromis niloticus* en laboratorio. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Trujillo escuela de postgrado. Perú, 2011. p. 38.

¹⁰² Ibid. P. 37.

¹⁰³ MONTAÑA, C. Crecimiento y supervivencia en el levante de alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en sistemas cerrados de recirculación de agua. Trabajo de Grado. Universidad Militar de Nueva Granada. Bogotá, 2009. p. 19.

¹⁰⁴ MARTÍNEZ, S., PÉREZ. A., JOVER. M. Alternativas de diseño de una granja de truchas: volumen de producción y número de lotes anuales con dos perfiles de temperaturas. Revista aquaTIC. España. 2003. p. 36.

¹⁰⁵ MONTAÑA, C, Op. cit. p. 20.

importante en la calidad del agua, en efecto, la concentración obtenida durante este estudio fue de 7,3 mg/L, dato que se asemeja a los encontrados por DOF¹⁰⁶, indicando que el nivel óptimo de concentración de OD en el agua para cultivos truchícolas es de 7,8 mg/L. por su parte Bernabé citado por Martínez¹⁰⁷, afirma que los alevinos requieren una concentración de OD entre 6 y 7 mg/L.

6.4.3 Potencial de Hidrógeno. Blanco¹⁰⁸, Chiodo¹⁰⁹, Stevenson¹¹⁰ y Stickney¹¹¹, afirman que el pH en agua debe oscilar entre 6,9 y 7,4; en este estudio el valor obtenido fue de 7,04, valor adecuado para el cultivo de esta especie.

6.4.4 Costo- Beneficio. Mediante la incorporación de bacterias con potencial probiótico en la alimentación de alevinos de trucha arcoíris, se obtuvieron mejores resultados en la relación beneficio-costo al igual que la mortalidad se vio reducida en el tratamiento con el consorcio bacteriano, este resultado se asemeja a los encontrados por Flores y Ordoñez¹¹² en la alimentación de tilapia roja. Por su parte Ángel¹¹³, explica que desde el punto de vista económico el impacto es que al mejorar la flora bacteriana el animal logra mayor absorción de nutrientes, no se inmunodeprime y por lo tanto hay menos posibilidades de enfermedades, lo que se traduce en ganancia en peso en el caso de los animales de engorde y mayor rendimiento en la producción y a pesar de ser un valor agregado en la dieta su costo sería revertido a largo plazo, pues reducirían costos en medicamentos y tratamientos médicos en caso de patologías digestivas.

¹⁰⁶ DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN DOF. 1995. NOM-027-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la pesca. Pescados frescos – refrigerados y congelados. Especificaciones Sanitarias. Tomo CDXCVIII No.3.

¹⁰⁷ MARTINEZ, D., Evaluación del impacto de la retención de sólidos suspendidos en los estanques de cultivo de trucha sobre la calidad físicoquímica del agua para la producción de peces. Trabajo de grado. Universidad del Valle. Cali. 2011. p. 19.

¹⁰⁸ BLANCO, M. C. La trucha. Cría industrial. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid, España. 1994. p. 15.

¹⁰⁹ CHIODO, L. M. Cultivo de truchas en lagunas. Ediciones Calipso. Argentina. 1998.

¹¹⁰ STEVENSON, J.P. Trout Farming Manual. Fishing News (book) Ltd., Surrey England. 1999. p. 35.

¹¹¹ STICKNEY, R. Enciclopedia of Aquaculture. John Wiley and Sons, Inc. Texas, State United of America. 2000. P. 34.

¹¹² FLORES, J., Ordoñez, J. Evaluación del efecto de un estimulante de crecimiento tipo probiótico en la fase de alevinaje de tilapia roja (*Oreochromis sp*), bajo condiciones de laboratorio. Tesis de Grado. Universidad de Nariño. 2014. p. 79.

¹¹³ ANGEL, M. Uso de probióticos en la nutrición de monogástricos como alternativa para mejorar un sistema de producción. Tesis de Grado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Facatativa. 2013. p. 59.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES.

Mediante diferentes pruebas bioquímicas se puede realizar el aislamiento, identificación y masificación de las bacterias *Bacillus sp* y *Lactobacillus sp* consideradas como microorganismos con posible potencial probiótico en la alimentación de alevinos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

El uso de probióticos con bacterias *Bacillus sp* y *Lactobacillus sp* consideradas como microorganismos con posible potencial probiótico favorecen el incremento de peso semanal como se observo en los tratamientos T2, T3 Y T4, con 5,7g, 6,3g y 7,4g respectivamente.

Los mejores incrementos de talla en la alimentación de alevinos de trucha arcoíris (*O. mykiss*) se observaron en el tratamiento T4 con 8,5 cm, al adicionar 2×10^4 UFC/g del consorcio microbiano con posible potencial probiótico, en relación a el tratamiento T0 con una talla menor de 7,73cm usando un probiótico comercial.

Los tratamientos con bacterias con potencial probiorico reportaron una mayor rentabilidad en el tratamiento con el consorcio microbiano T4 con la más alta relación beneficio costo de 1,38, con respecto al tratamiento con probiótico comercial T1 con un valor menor de 1,17.

7.2 RECOMENDACIONES.

Utilizar probióticos es una alternativa biotecnológica que mejora los parámetros zootécnicos de crecimiento y supervivencia y tendrá un beneficio directo que reducirá costos.

Es importante incorporar probióticos autóctonos en los balanceados comerciales en sistemas intensivos y superintensivos de producción de alevinos de trucha arcoíris, por su fácil adaptación al medio intestinal de dicha especie.

Realizar estudios con pruebas moleculares que permitan conocer un tiempo preciso de permanencia de los *Bacillus* y *LactoBacillus* en el intestino de alevinos de Trucha arcoiris.

Por sus efectos positivos en la mejora de calidad de agua se propone realizar estudios de adición de probiótico y el efecto en la aplicación de columnas de agua y sedimentos.

Realizar estudios que permitan conocer el control de las principales patologías de origen bacteriano usando probióticos.

Estandarizar los protocolos de manejo animal, así como también la masificación e identificación de bacterias potencialmente probióticas.

Teniendo en cuenta que en Colombia la disponibilidad de probióticos para el uso en acuicultura es limitada, se sugiere que nuevos estudios se centren en la búsqueda rigurosa de microorganismos probióticos nativos potenciales que puedan mejorar la supervivencia, fortalecer el sistema inmunológico, incrementar peso y talla de los animales hidrobiológicos de importancia acuícola.

8. BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR, Marisela. Inducción a la maduración gonádica y conservación del esperma de la trucha de san pedro mártir *Oncorhynchus mykiss*. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA. México. 2010.

ALTAMIRANO, Carlos. Evaluación de la efectividad del Probiótico “Sanolife Pro” en estanques de cultivo de camarones “*Litopenaeus vannamei*” en la Granja Acuicultura Torrecillas, Chinandega. Universidad nacional autónoma de Nicaragua. 2009. p. 23.

ANGEL, M. Uso de probióticos en la nutrición de monogástricos como alternativa para mejorar un sistema de producción. Tesis de Grado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Facatativa. 2013. p. 59.

APÚN, JP; SANTAMARÍA, A; GONZÁLEZ, A; MARTÍNEZ, SF; ROJAS, M. Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and suboptimum temperature. Aquac Res. Mexico. 2010. p. 20.

BASTARDO, Hilda. Hábitos alimenticios de la trucha Arcoiris, *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes: Salmonidae), en una quebrada Altiandina Venezolana. Venezuela. 1994. P. 690.

BELAN, T; MARTINEZ, D. Uso de Microorganismos Eficientes (EM) en la Alimentación de la Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Trabajo de Grado, Universidad EARTH, Guatemala. 2007. p. 40- 50.

BLANCO, M. C. La trucha cría industrial. Ediciones Mundi. Madrid, España. 1994. p. 15.

BORIN. Importancia de los alimentos en la estabilidad de la flora microbiana para la salud del ave. AMEVEA-PERÚ. Nutrición Animal. 2006. Citado por, AGUAVIL, J. Evaluación del efecto de un probiótico nativo elaborado en base a *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* sobre el sistema gastrointestinal en pollos broiler ross-308 en santo domingo de los tsáchilas. ECUADOR. 2012. p. 6-7.

GONZÁLEZ, C.; IRACHE, J; GONZÁLEZ, C.J. Soybean protein-based microparticles for oral delivery of probiotics with improved stability during storage and gut resistance. Food Chemistry, Science Direct. University of Navarra, Pamplona, Spain. 2017. P. 6.

CAGIGAS, A. BLANCO, J. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. Cuba. Revista Cubana Aliment Nutr. 2002. P. 6.

CALERO, M; VILLAVICENCIO, J. Evaluación del efecto del probiótico comercial Bio-Probiotic,CO en el ciclo productivo de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado Universidad las americas, Santiago de Chile. 2016. p. 50- 60.

CAMPA, A; LUNA, A; MAZON, J; AGUIRRE, G; ASCENCIO, F; GONZALES, H. Effect of probiotic bacteria on survival and growth of Cortez oyster larvae, *Crassostrea corteziensis* (Bivalvia: Ostreidae). Centro de investigaciones biologicas de noroeste. Mexico. 2010. p. 8.

CASTAÑO, G; ARHEX, P; PAGLIERO, F; LORDA, G. Interacciones celulares medidas por moléculas quorum como herramienta biotecnológica para el desarrollo de consorcios bacterianos PGPRs. Buenos Aires; Argentina: Universidad Nacional de La Pampa. 2015. p. 40-55.

CEBALLOS, Isabel. Selección de bacterias aeróbicas formadoras de endospora aisladas de la filosfera de cultivos de musa en el urabá Antioqueño, con potencial antagonico contra *mycosphaerella fijiensis*. Club de Informática Médica y Telemedicina (Universidad de Panamá). Prueba SIM (Sulfuro-Indol-Motilidad). Telmeds.org [publicada en línea]. 2009(10). [citado el 22 de Sep de 2017]. Disponible en: <http://www.telmeds.org/atlas/bacteriologia/bacilos-gram-negativos-fermentadores-y-no-fermentadores/prueba-sim-sulfuro-indol-motilidad>.

DAVID, Carlos & CASTAÑEDA, German. Larvicultura de peces comerciales en sistemas de recirculación. Colombia. 2014. p. 71.

Diario Oficial de la Federación DOF. 1995. NOM-027-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la pesca. Pescados frescos – refrigerados y congelados. Especificaciones Sanitarias. Tomo CDXCVIII No. 3.

DIAZ, Alejandra. Presencia de bacterias saprofitas y patógenas en piel y branquias de pescado fresco. Universidad Austral De Chile. Chile. 2004. P. 5.

DIAZ, C; MEDINA, A. VILLAMIZAR, A; PALENCIA, D. Efecto de un suplemento líquido a base de *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus casei* para la alimentación de mojarra roja (*Oreochromis* sp) en etapa de alevinaje y precria. Rev, Universidad Santander, Colombia. 2014. p. 90.

DONOSO, L. Evaluación, optimización y mejoramiento de la producción de alevinos de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en el Centro Ambiental Piscícola Guairapungo. Pasto, Colombia. 2013. P. 16.

DOUILLET, P. Bacterial additives that consistently enhance rotifer growth under synxenic culture conditions 2. Use of single and multiple bacterial probiotics. Aquaculture, citado por, LOPEZ, B. CRUZ, L. Elaboración de un probiótico a base

de microorganismos nativos y evaluación de su efecto benéfico al proceso digestivo de la tilapia roja (*Oreochromis spp.*) En etapa de engorde en la zona de santo domingo. Ecuador. 2011. P. 17.

ESPAÑA, A. Guía de Laboratorios de Microbiología. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Citado por ORTEGA, Lorena.; FUERTES, Karina. Evaluación de bacterias con potencial probiótico en la alimentación de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en el municipio de Tumaco, Colombia. 2014.

FAO. Estado mundial de la pesca y la acuicultura, citado por, SORROZA, L, et al. Uso de probióticos en acuicultura. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. 2011. P. 51-54.

FAO. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Probióticos en los alimentos, propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. 2002.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Programa de información de especies acuáticas. Recursos pesqueros y de acuicultura. Topics Fact Sheets. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. 2015. Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/es#tcN80064.

FLORES, J., ORDOÑEZ, J. Evaluación del efecto de un estimulante de crecimiento tipo probiótico en la fase de alevinaje de tilapia roja (*Oreochromis sp*), bajo condiciones de laboratorio. Tesis de Grado. Universidad de Nariño. 2014. p. 79.

GRANADOS, R & VILLAVARDE, M. Microbiología tomo I Bacteriología. Características y clasificación bacteriana. Virología. Características y técnicas bioquímicas, Plaza edición, Madrid, 2003. 249-260p. P. 19-21, Citado por MEDINA, Y. MESA, E. (2011). P. 19.

GROSMAN, Manuel. Interacciones tróficas entre trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), pejerrey patagónico (*Patagonina hatcheri*) y perca (*Percichthys trucha*) en un ambiente patagónico. Buenos Aires.1993.

GUARNER, F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. España. Revista scielo. 2007. P. 6.

GUTIERREZ, Luz. 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. Colombia. 2016. p. 70 – 92.

HAGOPIAN, D & Riley, J. A closer look at the bacteriology of nitrification, citado por, Kumar, Maloy; et al. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

HERNANDEZ, Cesar; AGUIRRE, Gabriel; LOPEZ, David. Sistemas de producción de acuicultura con recirculación de agua para la region norte, noreste y noroeste de México. México. 2009. P.120.

INGRAHAM, J & INGRAHAM, C. Introducción a la Microbiología, Citado por Monroy, L. consorcios microbianos con actividad ácido láctica promisorios aislados desde inoculantes bacterianos nativos para ensilajes. Bogota: Universidad Nacional. 2014. p. 5.

IRIANTO, A & AUSTIN, B. Use of dead probiotic cells to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, citado por RAMIREZ, D, et al. Probióticos en acuicultura: Avances recientes del uso de levaduras en peces marinos, La Paz, México. 2008. P. 238 -250.

KOZASA, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding, citado por GATESOUBE, F. Uso de Probióticos en Acuicultura, France.

KUMAR, M; SWARNAKUMAR, N; SIVAKUMAR, T; THANGARADJOU L. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives, Indian, 2008. P. 16.

LARA, M; OLIVERA, L; OLIVERA, M. Effect of the inclusion of a bacterial mix (*Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*), and the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth, feed utilization.

LEYVA, María; ZAMUDIO, May. Studies and importance of microbial communities in fishery resources and products. Revista scielo. México. 2014.

MADIGAN, M. Biología de los microorganismos, citado por, MEDINA, Y. MESA, E. Evaluación de consorcios microbianos conformados a partir de aislamientos bacterianos con capacidad degradadora de tetranitrato de pentaeritritol (petn) y trinitrotolueno (tnt). Universidad de la Salle. Bogotá. (2011). P. 19.

MARQUEZ, Francisco. Aislamiento y taxonomía de bacterias del género *Bacillus* recolectadas en suelos de un bosque de pinus radiata y una pradera permanente en distintas épocas de muestreo. Universidad Austral de Chile. Chile. 2007. P. 16.

MARTINEZ, D. Evaluación del impacto de la retención de sólidos suspendidos en los estanques de cultivo de trucha sobre la calidad fisicoquímica del agua para la producción de peces. Trabajo de grado. Universidad del Valle. Cali. 2011. p. 19.

MEDIGAN, M; MARTINKO, J; PARKER, J. Biología de los microorganismos. Editorial pearsonprentice hall. Madrid. 2006. P. 64.

MEDINA, Y & MESA, E. Evaluación de consorcios microbianos conformados a partir de aislamientos bacterianos con capacidad degradadora de tetranitrato de pentaeritritol (petn) y trinitrotolueno (tnt). Universidad de la Salle. Bogotá. (2011). P. 19.

MERINO, M; BONILA, S; BAGES, F. Diagnóstico del Estado de la Acuicultura en Colombia. Autoridad Nacional de Acuicultura y pesca, Bogotá, 2013. P. 56.

MOLINA; Monica. Efecto probiótico de *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* en cuyes (*Cavia porcellus*) de engorde. Colombia. 2008. P. 67.

MONROY, Maria; CASTRO, Talía; CASTRO, Jorge; CASTRO, Mejía; ANDRADE, Ramon. Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos acuáticos. 2012. p. 12.

MONTAÑA, C. Crecimiento y sobrevivencia en el levante de alevinos de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en sistemas cerrados de recirculación de agua. Trabajo de Grado. Universidad Militar de Nueva Granada. Bogotá, 2009. p. 19.

MORA, Gilberto; TELLEZ, Luz; CALA, Plutarco & GUILLOT, Gabriel. Estudio biotecnológico de la ictiofauna del lago de tota (boyaca-colombia), con énfasis en la trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss*. 1992. P. 15.

MORENO, Lizeth. Aislamiento y Selección de *Lactobacillus* sp con potencial probiótico a partir de pan de abejas. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias. Colombia. 2012. P. 115.

National Aquaculture Sector Overview. Visión general del sector acuícola nacional - Colombia. National Aquaculture Sector Overview Fact Sheets. Citado por Plan de Negocios Sectorial de la Piscicultura de Colombia. Consorcio formado por In-Nova Programa de Innovación Internacional S.L. y la Universidad Politécnica de Madrid. 2015. P. 56.

NAVA, GM & DAVILA, V. New perspectives in the selection and evaluation of probiotics. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de México. 2004.

NÚÑEZ, Melisa. Evaluación preliminar de las poblaciones bacterianas asociadas al tracto intestinal de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) expuesta a aceites esenciales de orégano en la dieta. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Bogotá, Colombia. 2011. P. 7.

OCHOA, Diana & MONTOYA, Alexandra. Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias; Universidad Nacional De Colombia, 2010. p. 61.

OCHOA, J; OLMOS, J. The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. Food microbiology, 2006, vol. 23. P. 520-230.

ORTEGA, Lorena.; FUERTES, Karina. Evaluación de bacterias con potencial probiótico en la alimentación de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tumaco, Colombia. 2014. P. 5 – 20.

ORTIZ, Angela; REUTO, Isabella. Evaluación de la capacidad probiotica in vitro de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae*. Universidad Javeriana, Facultad de ciencias, microbiología industrial. Bogotá D. C. 2007.

PALACIOS, J. CORAL, S. ZAMBRANO, A. LOPEZ, J. Evaluacion Comparativa De Prebióticos Y Probióticos Incorporados En El Alimento Comercial Sobre El Crecimiento Y La Sobrevivencia De Una Especie Nativa, El Sábalo Amazónico (*Brycon Melanopterus*) Y Una Especie Foránea, Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuícola año II, vol. 2, 2007. P. 197.

PALACIOS, P. Evaluacion comparativa de dos estimulantes de crecimiento tipo probiótico y el prebiótico en el levante y ceba de sábalo amazónico (*brycon melanopterus cope*, 1872), en el centro experimental amazónico, Colombia. Trabajo de grado (Ingeniería en producción Acuícola). Universidad de Nariño. 2007. p 102.

PARRADO, Yinet. Historia de la Acuicultura en Colombia, Revista científica de la Sociedad Española de Acuicultura. Huila, Colombia. 2012. P. 4-16.

PÉREZ, T. Selección y evaluación de cepas probióticas para la prevención de la lactococosis en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) selección y evaluación de cepas probióticas para la prevención de la *Lactococosis* en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Universidad De Zaragoza, Patología Animal, Zagan, 2011. P. 43.

PINOS, A. 2007. Breve reseña de los probióticos. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. La Habana.

PUCCINI, Rafael; LANDINES, Miguel; DÍAZ, Gonzalo. Composición de ácidos grasos en ovas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). Revista scielo. Bogotá. 2012.

REMEL. Macconkey Agar. Lenexa. USA. 2010. P. 1. Disponible en: <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/IFU453801.pdf>.

RINGO, E & GATESOUBE, FJ. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture, citado por, KUMAR, Maloy. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

RODRIGUEZ, V; GUERRERO, J. A. Resistencia gastrointestinal y micro encapsulación. Departamento de ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. México. Revista Scielo. 2010. P. 58.

RONSON, José; MEDINA, Reyna. Probióticos en la acuicultura. Universidad de Santiago de Compostela. Revista. 2002. p. 49.

SALDAÑA, G. Efecto de dietas con diferentes concentraciones de *Lactobacillus* sp. Enriquecido con proteína hidrolizada de vísceras de *Argopecten purpuratus*, sobre el crecimiento y supervivencia de alevines de *Oreochromis niloticus* en laboratorio. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Trujillo escuela de postgrado. Perú, 2011. p. 38.

SAKAI, M; YOSHIDA, T; KOBAYASHI, M. Enhancement of resistance to vibriosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) by oral administration of *Clostridium butyricum* bacteria, citado por, Kumar, Maloy; et all. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

SALAZAR, Ariza. Fundamentos de acuicultura continental. Consideraciones generales sobre la acuicultura, citado por, PINEDA, Hermes. Triploidía en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), Colombia. 2004. P. 46.

SAURABH, S; CHOUDHARY A; SUSHMA, GS. Concept of probiotics in aquaculture, citado por, KUMAR, Maloy. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

SELVARAJ V, SAMPATH K, SEKAR V. ADJUVANT and Immunomodulatory effect of b-glucan administration in combination with LPS enhances survival and some immune parameters in carp challenge with *A. hydrophila*, Citado por VELAZQUEZ. Inmunoestimulantes en teleosteos: Probióticos, b-glucanos y LP. Universidad de los Llanos. Orinoquia. 2012. p. 34.

SICA, Maria. Bacterias lácticas del estuario de Bahía Blanca. Evaluación de sus propiedades probióticas para su potencial uso en cultivo de trucha arcoiris (*Ocorhynchus mykiss*). Argentina, Bahía Blanca. 2013. p. 54.

SKJOLSTRUP J.; NIELSEN, P.; FRIER, J.; MCLEAN, E. Performance characteristics of 16 fluidised bed biofilters in a novel laboratory-scale

recirculation system for rainbow trout: 17 nitrification rates, oxygen consumption and sludge collection, citado por, KUMAR, Maloy. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

STAMS, J. M. & PLUGGE, M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. Laboratory of Microbiology, Wageningen University, Dreijenplein 10, 6703 HB Wageningen, The Netherlands. Nature Reviews Microbiology. 2009. P. 69.

STEVENSON, J.P. Trout Farming Manual. Fishing News (book) Ltd., Surrey England. 1999. p. 35.

STICKNEY, R. Enciclopedia of Aquaculture. John Wiley and Sons, Inc. Texas, State United of America. 2000. p. 35.

TORMO, Carnicé. Probióticos. Concepto y mecanismos de acción. Gastroenterología y Nutrición Infantil. Hospital Vall d'Hebron. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España. 2006. P. 30.

TOVAR, D. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass larvae, citado por RAMIREZ, D, et al. Probióticos en acuicultura: Avances recientes del uso de levaduras en peces marinos, La Paz, México. 2008. P. 238 -250.

VANBELLE, M; TELLER, E; FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition: a review citado por, Kumar, Maloy; et all. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. India, Springer. 2008. P. 7.

VASEEHARAN, B & RAMASAMY, P. Control of pathogenic *Vibrio* spp. By *Bacillus subtilis* BT23, a posible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon* letters in Applied Microbiology, citado por RAMIREZ, D, et al. Probióticos en acuicultura: Avances recientes del uso de levaduras en peces marinos, La Paz, México. 2008. P. 238 -250.

WALBAUM, Johann. 1792, citado por, PARRADO, Yinet. Historia de la Acuicultura en Colombia, Revista científica de la Sociedad Española de Acuicultura. Huila, Colombia. 2012. P. 23.

WANG, Yanbo; XU, Zirong. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal Science College, The Key Laboratory of Molecular Animal Nutrition, Zhejiang University, Zhejiang, China. 2005. p. 283 – 290.

WITTWER, Geraldine. Caracterización bacteriana de intestino de salmón del atlántico adulto. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 2012. P. 35.

ZIORTZA, Cruz. Aplicación de probióticos en el sector de la acuicultura: Desafíos y Perspectivas. España. 2013. P. 42-45.

Anexos

Anexo A. Muestreo semanal peso y talla.

Peso

	Inicial	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Final
TOR 1	0.32	0.62	0.56	1.11	1.8	3.86	1.97	3.33	6.92	5.42
	0.42	0.51	0.55	0.86	1.02	1.77	0.9	4.13	4.94	6.1
	0.49	0.60	0.57	1.54	2.34	1.13	2.85	4.67	4.75	5.13
	0.43	0.51	0.64	0.97	0.82	2.52	3.48	4.03	4.67	5.09
	0.53	0.54	0.51	1.38	2.19	2.05	4.23	3.43	4.21	6.65
	0.44	0.54	0.74	0.94	1.7	0.67	2.34	3.81	5.38	5.07
	0.52	0.54	0.98	1.02	1.26	0.5	3.16	5.31	4.42	4.05
	0.46	0.52	0.82	1.43	1.63	4.93	1.45	3.99	5.4	5.65
	0.52	0.51	0.97	1.11	3.12	1.17	4.15	4.3	4.33	5.09
	0.54	0.50	0.68	1.98	2.15	2.28	2.9	3.27	4.44	5.4
TOR 2	0.48	0.54	0.5	1.39	2.15	1.89	4.8	3.98	4.42	4.82
	0.50	0.54	0.54	0.75	1.08	2.52	2.63	3.47	5.28	6.98
	0.47	0.54	0.56	1.25	1.3	2.81	2.83	3.66	4.84	6.98
	0.56	0.45	0.65	0.99	0.96	2.5	1.29	4.07	5.36	6.13
	0.38	0.54	0.55	0.85	0.92	1.56	2.51	3.34	5.4	5.56
	0.67	0.54	0.53	0.95	1.43	1.23	2.87	3.64	4.26	6.66
	0.48	0.54	0.83	0.81	1.34	2.61	2.59	3.46	4.11	4.97
	0.49	0.52	0.79	1.44	0.9	1.63	1.4	3.38	4.64	5.24
	0.55	0.51	0.82	1.21	1.82	1.55	2.89	3.53	4.54	5.27
	0.49	0.50	0.76	1.58	1.83	1.14	1.88	3.55	4.34	5.61
TOR 3	0.51	0.54	0.51	1.4	2.4	2.56	2.56	3.32	4.7	6.59
	0.65	0.69	0.6	1.6	1.22	3.07	3.94	3.37	4.58	6.37
	0.44	0.51	0.5	1.19	1.42	1.52	3.93	4.45	5.05	6.37
	0.64	0.64	0.57	0.86	1.23	1.98	3.42	3.58	4.16	6.98
	0.38	0.51	0.61	1.18	1.76	1.81	3.57	3.69	4.55	4.69
	0.59	0.68	0.76	1.75	1.18	2.29	1.4	3.5	4.16	5.27
	0.57	0.49	0.76	0.85	1.33	2.52	3.48	4	4.44	5.37
	0.48	0.61	0.91	1.26	1.27	3.06	3.5	3.52	4.38	5.38
	0.42	0.49	0.74	1.22	1.54	2.32	3.72	4.35	5.29	5.43
	0.51	0.59	0.65	1.18	1.35	0.95	3.58	3.5	5.06	5.24
TOR 4	0.46	0.68	0.66	1.39	1.45	2.91	2.85	4.45	4.62	5.19
	0.48	0.68	0.5	1.18	1.49	1.56	2.8	3.66	4.22	4.9
	0.35	0.65	0.5	1.15	1.41	2.06	3.32	3.3	5.28	6.07
	0.54	0.58	0.51	0.87	1.47	1.82	2.88	4.4	5.36	5.47
	0.54	0.50	0.6	1.5	1.01	1.69	2.58	3.95	5.18	6.95

	0.63	0.70	0.89	1.13	0.95	1.42	2.44	3.54	5.22	6.06
	0.40	0.69	0.82	1.43	0.54	1.89	3.55	4.11	4.95	5.96
	0.44	0.68	0.68	0.84	0.94	0.75	3.09	4.38	4.47	6.5
	0.61	0.52	0.50	1.46	2.15	2.85	2.34	3.32	5.4	6.07
T2R 1	0.58	0.58	0.51	1	1.12	2.17	2.99	4.36	5.32	6.16
	0.48	0.64	0.61	1.04	1.35	2.44	2.27	3.47	4.46	5.58
	0.5	0.58	0.3	1.19	1.11	2.23	2.63	4.13	4.35	5.45
	0.37	0.60	0.4	1.45	1.69	2.35	2.96	4.13	4.39	5.48
	0.5	0.61	0.17	0.83	1.68	1.54	3.29	4.43	4.76	5.46
	0.58	0.53	0.93	1.53	1.55	2.32	2.73	3.59	4.7	5.58
	0.43	0.68	0.88	1.35	1.49	1.24	1.87	4.36	4.57	5.04
	0.54	0.67	0.74	1.29	1.5	2.25	4.59	3.75	5.23	6.03
	0.53	0.49	0.80	0.96	1.64	2.33	5.38	3.42	4.99	6.23
0.51	0.56	0.66	1.47	1.12	1.98	2.09	3.95	4.47	6.14	
T2R 2	0.59	0.60	0.88	1.32	2.02	2.84	4.48	4.3	5	6
	0.5	0.69	0.76	1.23	0.85	2.65	4	4	4.2	5.49
	0.49	0.64	0.68	1.14	1.78	1.84	4.4	3.84	5.53	5.78
	0.51	0.59	0.69	1.18	1.07	3.4	1.7	4.01	5.33	6.36
	0.46	0.61	0.83	0.74	1.45	3.12	3.55	4.3	5.12	6.1
	0.48	0.49	0.92	1.13	1.55	2.35	2.42	4.09	4.79	5.91
	0.49	0.54	0.66	1.56	1.36	1.95	2.24	3.43	4.58	5.54
	0.34	0.58	0.81	0.83	1.52	2.23	3.06	3.44	5	5.51
	0.43	0.64	0.79	1.38	1.86	1.77	3	3.63	4.22	5.19
0.39	0.68	0.49	1.11	1.37	2.5	2.3	3.37	4.89	6.07	
T2R 3	0.68	0.70	0.55	1.25	1.09	3.37	3.9	4.46	4.73	5.68
	0.43	0.66	0.95	1.1	2.35	3.67	1.8	4.32	4.34	5.59
	0.46	0.65	0.49	1.07	1.91	3.6	4.6	3.49	4.27	5.73
	0.47	0.70	0.85	1.34	1.3	2.55	3.07	4.25	4.92	6.14
	0.69	0.60	0.68	1.42	1.57	3.08	3.28	3.74	5.05	5.49
	0.36	0.69	0.97	1.92	0.8	2.69	2.27	3.67	4.43	5.53
	0.46	0.63	0.92	1.45	1.3	3.45	1.43	3.83	4.27	5.8
	0.42	0.70	0.50	1.27	1.16	1.95	2.67	4.18	5.25	5.57
	0.46	0.61	0.88	1.7	1.68	3.75	2.5	3.44	4.56	5.65
0.36	0.69	1.00	1.16	1.36	1.92	3.67	4.07	5.45	5.98	
T2R 4	0.66	0.53	0.8	1.02	1.41	2.98	2.55	4.23	4.82	6.26
	0.74	0.60	0.6	1.04	1.41	2.58	3.51	4.17	4.59	5.85
	0.43	0.49	0.79	0.97	0.93	2.41	4.35	3.62	5.66	4.85
	0.55	0.49	0.74	0.84	1.1	2.95	2.73	4.18	4.36	5.61
	0.66	0.57	0.67	1.16	1.2	2.95	2.74	3.93	4.49	5.53
	0.74	0.57	0.90	1.19	1.32	2.83	1.72	4.06	6.12	5.66
	0.52	0.58	0.63	1.28	2.34	3.45	4.34	3.47	4.77	6.33
	0.33	0.56	0.72	1.26	1.31	3.33	4.09	3.91	5.29	5.89

	0.57	0.69	0.73	1.38	1.55	2.15	2.8	3.53	5.12	6.38
	0.52	0.65	0.71	1.19	1.61	2.87	2.09	3.83	4.55	6.22
T3R 1	0.53	0.70	0.61	1.26	1.2	2.85	4.11	4.31	5.26	6.75
	0.36	0.64	0.56	1.15	1.23	2.86	4	4.55	5.52	6.52
	0.42	0.66	0.7	1.01	1.2	2.95	3.37	4.83	5.99	6.45
	0.56	0.54	0.55	1.66	1.27	3.49	4.75	4.81	5.71	6.35
	0.55	0.68	0.68	0.98	1.39	2.55	4.03	4.12	5.37	6.27
	0.58	0.53	0.49	0.99	1.85	2.6	3.48	4.3	5.74	6.5
	0.47	0.67	0.74	0.98	0.99	1.95	3.72	4.32	5.57	6.4
	0.62	0.58	0.64	1.24	1.25	1.95	3.07	5.09	5.84	4.86
	0.59	0.64	0.79	1.07	1.3	2.88	2.75	4.37	5.37	6.72
	0.56	0.72	0.79	1.07	1.4	2.63	3.83	5.06	6.12	6.21
	T3R 2	0.34	0.69	0.58	0.83	1.61	2.5	3.29	4.99	5.47
0.45		0.52	0.47	1.39	1.36	3.25	3.92	4.18	5.53	6.01
0.44		0.65	0.65	1.04	3.42	2.19	3.33	4.22	6.04	6.33
0.75		0.54	0.68	1.73	1.69	2.78	2.69	4.44	5.67	4.78
0.52		0.60	0.63	1.12	1.34	2.7	3.34	4.37	5.25	6.15
0.80		0.50	0.58	1.14	2.25	2.14	3.15	4.3	5.56	6.41
0.54		0.52	0.91	1.31	1.93	2.63	3.84	4.22	5.47	6.67
0.34		0.69	0.65	1.08	1.31	2.42	3.58	4.98	5.93	6.92
0.79		0.50	0.84	1.24	0.87	1.93	4.24	4.3	5.62	6.65
0.41	0.57	0.92	0.87	1.17	2.35	3.15	4.04	5.98	4.85	
T3R 3	0.47	0.59	0.43	1.36	1.77	2.97	2.81	4.09	6.14	6.63
	0.47	0.60	0.48	0.91	1.71	3.62	2.5	4.19	5.8	6.63
	0.47	0.67	0.5	1.28	2.02	4.45	2.82	4.44	5.96	7
	0.43	0.64	0.6	1.28	1.76	3.9	3.01	5.1	5.23	6.6
	0.65	0.69	0.63	1.07	1.55	3.42	3.99	4.74	5.2	5
	0.33	0.67	0.72	1.67	2.08	3.51	2.91	4.65	5.77	6.74
	0.45	0.75	0.93	0.81	1.59	2.92	3.35	4.29	5.61	6.11
	0.39	0.51	0.73	1.31	1.72	2.78	4.06	4.08	5.62	7.03
	0.52	0.51	0.52	1.16	1.85	3.07	3.9	4.81	5.41	6.66
	0.45	0.69	0.96	1.25	1.29	2.95	2.62	5.02	5.62	4.92
T3R 4	0.37	0.50	0.69	0.94	0.9	2.85	2.92	4.72	5.52	6.09
	0.35	0.63	0.5	1.18	1.57	2.63	4.42	4.01	6.15	6.18
	0.50	0.60	0.6	1.31	0.9	2.93	4.23	4.03	5.62	7.17
	0.63	0.62	0.61	0.8	1.99	2.66	3.1	5.08	5.36	6.68
	0.80	0.59	0.65	1.2	1.53	2.18	4.27	4.84	5.89	6.8
	0.34	0.64	0.98	1.28	1.55	3.3	3.2	4.04	5.23	7.42
	0.46	0.55	0.88	1.04	1.2	3	3.26	4.14	5.72	7.2
	0.32	0.70	0.96	1.4	1.4	2.68	2.95	5.1	6.14	7.08
	0.43	0.50	0.82	0.97	2.09	2.15	5.2	4.5	5.58	7.18
0.77	0.58	0.77	1.16	1.1	3.3	3.08	4.52	5.41	6.52	

T4R 1	0.59	0.65	0.78	1.43	1.39	2.41	4.47	4.31	7.48	7.55
	0.42	0.71	0.63	1.06	1.71	1.69	2.76	4.73	5.79	7.58
	0.53	0.54	0.66	1.07	1.82	3.72	3.73	4.82	5.97	7.7
	0.42	0.49	0.52	0.95	1.35	1.85	2.94	5.3	5.9	7.41
	0.53	0.53	0.82	1.7	0.88	1.61	3.28	4.77	8.69	7.28
	0.48	0.69	0.78	1.23	1.41	2.6	3.9	4.88	5.87	7.55
	0.62	0.64	0.93	0.92	1.4	1.85	3.18	4.66	5.4	7.29
	0.49	0.49	0.84	0.84	1.12	2.15	3.28	4.28	5.6	7.11
	0.46	0.55	0.78	1.03	1.6	3.17	2.77	4.76	6.32	7.5
	0.51	0.63	0.80	1.47	1.19	2.35	4.21	4.43	6.4	7.74
T4R 2	0.51	0.51	0.63	1.37	1.32	3.31	3.25	4.55	7.41	7.61
	0.43	0.67	0.73	1.16	0.86	3.11	3.3	4.33	5.92	7.66
	0.46	0.70	0.56	0.87	1.71	2.24	4.36	4.96	6.38	7.02
	0.57	0.60	0.56	0.99	1.28	3.2	3.75	4.76	8.85	7.74
	0.53	0.69	0.65	1.1	2.06	1.33	2.91	4.55	6.1	7.04
	0.45	0.56	0.79	0.89	2.1	1.62	3.03	4.76	5.83	7.11
	0.45	0.49	0.80	1.18	0.99	3.02	4.12	4.83	6.4	7.43
	0.34	0.65	0.69	1.3	1.08	1.9	2.94	4.69	6.01	7.43
	0.39	0.69	0.78	0.78	1.44	1.19	3.54	4.93	5.62	7.06
	0.48	0.66	0.74	1.26	1.4	1.34	3.9	5.24	6.29	7.74
T4R 3	0.40	0.51	0.35	1.4	2.45	2.45	4.15	4.97	5.56	7.72
	0.61	0.67	0.65	1.53	2.34	4.19	4.13	5.08	5.77	7.13
	0.66	0.67	0.71	1.11	2.15	3.85	2.88	4.31	5.97	7.12
	0.62	0.74	0.75	1.37	1.95	3.81	4.23	4.62	5.88	7.26
	0.63	0.64	0.65	1.35	1.9	2.45	5.29	5.21	5.65	7.39
	0.59	0.52	0.87	1.6	1.45	2.67	2.61	4.86	5.4	7.31
	0.35	0.68	0.71	1.63	2.8	2.67	3.09	5.24	5.71	7.69
	0.55	0.70	0.64	0.78	2.17	2.87	3.42	4.64	5.9	7.52
	0.55	0.51	0.67	1.38	1.86	3.04	3.49	4.73	6.4	7.04
	0.58	0.64	0.80	1.46	2.05	3.55	2.8	4.45	6.32	7.46
T4R 4	0.41	0.68	0.63	1.25	2.95	2.41	4.21	5.25	6.09	7.6
	0.61	0.64	0.7	0.89	1.93	1.69	2.85	5.26	6.12	7.01
	0.59	0.59	0.67	0.73	1.76	2.29	3.67	4.72	6.35	7.62
	0.40	0.63	0.73	1.18	1.87	1.93	2.92	4.7	5.67	7.43
	0.46	0.57	0.68	1	1.89	3	4.05	4.71	5.19	7.61
	0.46	0.58	0.84	1.2	1.91	2.53	4.75	4.85	5.3	7.41
	0.36	0.63	0.55	1.14	1.15	3.21	3.28	4.72	5.33	7.35
	0.65	0.49	0.74	1.55	1.65	3.35	4.49	4.5	6.66	7.69
	0.63	0.50	0.88	0.95	1.91	2.67	4.15	4.27	6.01	7.38
	0.44	0.64	0.60	0.93	1.8	2.75	4.48	4.82	5.89	7.66

Muestreo talla

	Inicial	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8	final
TOR 1	3.24	3.50	3.1	3.51	3.85	5.14	5.9	7.66	6.8	8.4
	2.84	3.31	3.42	3.59	3.90	5.19	5.95	7.3	5.83	7.41
	3.22	3.40	3.45	3.6	3.94	5.26	6.16	7	6.92	8.57
	2.89	3.54	3.42	4.04	4.34	5.27	6.25	6.91	8.03	8.42
	2.81	2.80	3.77	3.58	3.82	5.38	5.73	7.14	7.34	7.94
	3.27	3.13	3.44	3.62	4.10	5.11	5.99	6.69	8.36	8.07
	3.21	3.62	3.41	3.71	3.75	5.22	6.24	7.4	7.25	7.64
	3.00	3.39	3.36	3.97	3.97	5.07	5.84	7.36	7.12	7.41
	3.36	3.41	3.23	4.26	4.23	5.38	6.17	7.45	7.6	7.87
TOR 2	3.32	3.37	3.38	3.83	3.66	5.19	5.81	7.57	7.6	7.58
	3.43	3.18	3.21	4.09	3.90	4.9	5.8	6.61	8.46	7.16
	2.80	3.10	3.15	4.34	4.18	5.44	5.62	6.72	7.61	8.08
	2.78	3.13	3.54	3.79	4.06	5.08	5.87	6.57	7.14	7.56
	3.20	2.71	3.59	3.82	4.05	5.05	5.69	6.1	6.22	7.34
	3.04	3.58	3.54	4.28	4.22	5.37	5.73	6.85	7.35	7.86
	2.93	3.48	3.54	3.91	4.50	5.44	5.97	6.53	6.83	7.72
	3.44	3.12	3.43	3.75	4.27	5.05	5.61	6.18	8.3	7.6
	3.25	3.28	3.15	3.81	3.98	5.18	5.76	6.29	6.3	7.78
TOR 3	3.17	2.89	3.43	3.83	4.53	4.96	6.13	6.83	8.33	7.79
	3.43	3.21	3.25	3.56	3.90	5.3	6.26	6.12	8.12	7.93
	2.89	2.74	3.46	4.1	4.38	4.95	6.09	6.17	8.36	8.33
	2.97	3.21	3.72	4.19	3.97	5.17	6.05	6.05	8.02	7.66
	2.77	3.56	3.8	3.57	3.87	5.28	5.9	6.68	8.33	7.24
	3.07	3.56	3.19	3.65	3.98	5.38	5.87	6.37	8.11	8.33
	3.40	3.53	3.17	3.92	4.24	5.47	5.68	6.23	8.12	7.24
	3.26	3.16	3.56	3.74	4.13	5.31	6.03	6.43	6.11	7.06
	2.94	2.78	3.68	4.21	3.74	5.21	5.79	6.27	7.41	8.49
TOR 4	3.43	3.22	3.3	4.48	4.42	5.06	5.73	6.19	7.91	7.16
	3.45	3.16	3.29	4.42	3.76	5.34	5.99	6.03	6.93	7.71
	3.01	3.23	3.28	4.06	3.86	5.26	5.86	6.42	6.9	8.18
	2.93	3.14	3.13	4.47	4.42	4.93	6.24	6.69	6.3	7.59
	2.89	2.72	3.45	4.41	4.15	4.99	6.17	6.44	7.53	7.67
	2.83	3.54	3.75	4.18	4.06	4.99	6.25	6.22	7.12	7.08
	3.40	3.76	3.57	3.85	4.48	4.91	6.03	6.28	5.06	7.35
3.00	3.27	3.12	4.18	4.42	5.33	6.17	6	6.92	8.29	
2.81	3.43	3.15	4.06	4.41	5.45	5.88	6.29	6.8	7.66	
3.04	3.22	3.56	4.2	3.93	5.42	5.66	6.36	6.48	7.15	

	2.86	2.75	3.45	3.97	3.83	5.43	5.96	6.69	6.26	8.33
	3.40	3.52	3.49	3.74	4.51	5.34	5.91	6.57	6.42	7.56
	3.34	3.70	3.71	4.25	4.23	5.33	6.24	6.64	6.9	7.36
T1R 1	3.00	3.28	3.84	3.91	4.66	6.16	5.77	6.14	7.05	8
	2.50	3.29	3.71	4.61	4.57	5.14	6.06	6.52	7.31	7.77
	3.50	3.34	3.62	3.12	4.79	5.49	5.78	6.31	7.14	7.88
	2.00	2.39	3.6	4.36	4.66	4.8	5.94	6.58	7.32	7.47
	3.00	3.59	3.78	3.47	4.56	5.15	5.79	6.32	7.98	8.19
	3.00	3.19	4.3	3.93	5.07	5.15	5.99	6.47	7.12	7.34
	2.83	3.29	3.48	4.08	4.99	4.95	5.93	6.48	7.22	7.98
	2.83	2.89	3.73	4.21	4.79	5.31	5.77	6.33	7.92	7.19
	2.83	3.12	3.57	4.21	4.95	4.73	6.23	6.65	5.82	7.09
	2.83	3.07	3.75	3.84	5.12	5.07	5.85	6.35	7.34	8.09
T1R 2	2.5	3.11	3.32	3.94	4.24	5.37	6.23	6.41	7.81	7.13
	3.00	2.91	3.69	3.97	4.64	4.97	6.11	6.29	7.21	7.31
	3.50	3.19	4.21	3.84	4.57	5.46	5.83	6.7	6.82	8.17
	2.70	3.17	3.74	4.93	4.79	5.18	6.2	6.48	7.12	7.63
	3.00	3.53	3.39	4.07	3.90	5.26	5.73	6.69	6.34	7.76
	3.15	2.73	3.48	4.46	4.75	5.43	6.11	6.17	7.95	8.21
	3.22	3.49	3.55	3.84	4.80	4.95	6.25	6.66	7.32	8.46
	3.29	3.38	3.79	4.18	4.55	5.06	5.93	6.06	7.5	7.46
	3.36	3.69	4.21	4.21	4.48	4.78	5.94	6.69	7.14	7.41
	3.43	3.22	4.47	3.91	4.45	5.09	5.91	6.61	6.92	7.67
T1R 3	3.50	2.97	3.35	4.19	4.77	5.05	6.21	6.1	7.51	7.87
	3.70	3.4	3.72	4.45	4.50	5.45	6.03	6.54	7.12	7.2
	3.00	3.28	3.16	3.91	4.18	5.04	5.99	6.54	6.92	8.53
	3.00	3.71	4.15	3.63	5.16	5.15	6.29	6.11	7.51	7.56
	2.80	3.31	3.16	4.11	4.60	5.06	5.95	6.31	7.53	7.4
	2.60	2.75	3.42	4.23	4.51	5.34	6.19	6.6	5.8	7.62
	3.30	3.24	3.61	4.39	4.80	4.97	6.03	6.64	6.33	8.15
	3.20	3.58	3.49	4.48	4.96	4.7	5.71	6.59	7.31	7.76
	2.75	3.41	3.37	4.18	5.00	5.34	6.19	6.29	4.93	8.52
	2.90	3.3	3.41	3.44	4.51	4.9	5.87	6.05	5.34	7.78
T1R 4	2.55	3.23	3.62	4.42	3.96	5.08	6.04	6.21	6.41	8.44
	3.16	2.89	3.32	3.87	4.76	5	6.25	6.48	7.91	8.01
	3.37	3.57	3.35	4.15	4.14	4.94	5.8	6	7.32	8.12
	3.41	3.69	3.72	4.24	3.94	4.85	5.98	6.26	7.8	8.32
	2.52	3.31	3.28	3.96	4.69	5.37	6.17	6.56	6.83	7.48
	3.06	3.79	3.23	4.3	4.73	5.32	6.07	6.7	6.92	7.35
	3.08	3.17	4.18	4.23	4.69	6.2	6.18	6.48	7.31	7.8
	3.10	3.43	3.71	4.08	3.96	5.01	6.11	6.53	8.34	7.97
	3.12	3.01	3.45	4.43	4.62	5.06	6.21	6.3	5.32	7.92

	3.14	3.2	4.12	3.91	4.21	5.06	6.16	6.47	7.95	7.5
T2R 1	3.70	3.88	3.46	4.03	5.18	5.49	6.05	6.08	7.52	7.58
	3.60	2.76	4.2	3.9	4.32	4.9	6.3	6.2	6.7	7.45
	3.00	3.57	3.18	4.08	4.08	5.43	6.19	6.18	7.24	8.13
	3.40	3.56	3.91	4.48	4.55	5.22	6.14	6.68	7.2	7.75
	3.70	3.84	3.95	3.92	4.36	5.06	6.12	6.25	7.13	7.39
	3.42	3.63	3.43	4.09	5.18	4.92	5.83	6.07	7.01	8.31
	3.40	3.57	4.35	3.99	4.62	5.14	6.24	6.3	7.44	7.13
	3.38	2.83	3.53	3.87	4.76	4.78	6.29	6.5	7.96	7.9
	3.36	3.53	3.78	4.18	4.88	4.89	6.03	6.02	8.5	8.52
	3.34	2.69	3.71	4.14	4.99	5.47	5.96	6.53	6.8	7.62
T2R 2	2.85	3.48	3.39	4.42	5.05	5.02	5.6	6.7	8.12	7.94
	2.98	3.17	3.62	4.63	4.81	5.1	5.72	6.9	7.91	8.34
	2.95	2.77	3.38	3.52	4.73	5.17	5.75	6.22	8.56	8.51
	3.18	3.2	4.49	3.79	4.86	5.29	5.85	6.71	6.47	7.1
	3.36	3.21	3.72	4.46	5.21	5.41	5.92	6.24	7.38	7.72
	2.85	3.8	3.61	3.71	4.42	4.93	5.93	6.04	7.31	8.28
	3.10	3.25	3.27	4.51	4.72	5.33	5.74	6.8	7	8.21
	3.25	3.76	4.66	4.85	4.78	5.46	6.29	6.11	7.35	8.03
	2.75	3.18	3.77	3.64	4.66	4.94	6.29	6.29	7.11	8.5
	2.96	3.21	3.38	4.13	4.99	5.49	5.95	6.79	7.32	8.15
T2R 3	2.85	3.54	3.29	4.38	4.79	5.45	5.6	6.18	7.3	7.61
	2.75	3.58	3.29	3.71	5.14	5.36	6.3	6.2	6.9	7.99
	2.85	2.86	4.2	4.27	4.32	5.46	5.65	6.42	8.44	7.74
	2.95	2.73	3.43	4.86	4.58	5.31	6.18	6.76	7.8	7.5
	2.96	3.33	3.39	3.61	4.47	5.29	5.6	6.67	6.8	8.44
	2.98	3.37	3.64	4.4	4.85	5.46	5.83	6.53	6.37	8.27
	3.10	2.74	3.73	3.63	4.62	5.22	5.97	6.06	7.21	8.33
	3.18	3.5	3.34	4.62	4.51	5.29	6.28	6.46	7.19	8.08
	3.25	3.19	4.24	4.3	5.05	5.02	6.29	6.3	8.08	7.42
	3.36	3.31	4.51	4.7	4.98	5.3	5.94	6.57	7.37	7.65
T2R 4	2.85	3.52	3.52	4.23	3.93	5.44	6.21	6.37	7.68	7.86
	3.15	2.86	4.6	4.98	4.54	5.08	5.79	6.85	8.69	8.05
	3.19	3.61	3.72	4.37	4.58	5.05	5.94	6.02	7.12	7.74
	2.96	3.66	3.17	3.54	4.51	5.37	5.77	6.21	7.31	7.1
	3.52	2.77	3.43	4.38	4.14	5.44	5.78	6.77	6.03	7.78
	2.82	3.56	3.64	4.27	4.74	5.05	6.11	6.71	5.9	7.39
	3.26	3.28	3.59	3.73	4.39	5.18	5.83	6.7	8.54	7.33
	2.75	2.95	4.5	4.09	4.45	4.96	6.16	6.58	8.33	7.9
	2.81	3.64	3.21	3.81	4.98	5.3	6.3	6.18	7.28	7.26
	2.90	3.43	3.37	3.93	4.69	5.3	6.2	6.26	6.91	7.09
T3R	2.85	3.42	3.56	3.92	4.74	5.26	6.11	6.55	7.7	6.99

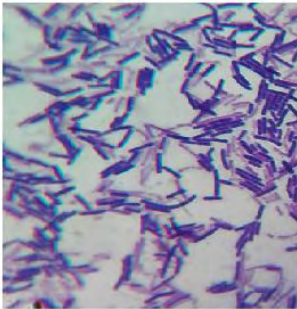
1	2.90	3.82	3.34	4.04	5.64	5.33	5.69	6.15	7.63	7.76
	2.95	3.5	3.29	4.41	4.65	5.22	6.18	6.22	7.52	8.21
	3.00	3.29	3.68	4.14	4.78	5.28	5.8	6.31	7.91	8.43
	3.05	2.71	3.6	4.2	4.69	5.42	5.92	6.65	7.59	7.01
	3.10	3.22	3.38	4.01	5.40	5.04	6.19	6.36	7.6	8.32
	3.15	3.22	3.11	4.13	5.19	4.97	6.25	6.41	7.53	8.5
	3.20	2.76	3.15	4.42	4.61	5.35	6.24	6.2	7.22	7.56
	3.25	3.26	3.24	4.31	4.53	5.20	6.22	6.8	7.11	7.08
	3.30	3.32	3.3	4.44	4.95	5.11	6	6.7	6.7	7.81
T3R 2	2.89	3.45	3.68	3.7	4.56	5.24	6.29	6.75	7.23	8.37
	2.97	3.26	4.3	4.47	4.64	5.38	6.49	6.02	7.73	8.64
	2.80	3.5	3.47	4.76	4.95	5.30	6.35	6.27	7.65	8.9
	3.05	3.61	4.63	4.38	3.98	5.27	6.29	6.15	7.16	8.04
	2.99	3.33	3.45	4.9	4.77	5.28	6.12	6.66	7.21	8.97
	3.38	3.17	3.45	3.85	4.94	5.27	6.49	6.34	7.34	8.16
	2.93	3.41	4.4	4.22	5.06	5.27	5.93	6.99	7.68	8.58
	2.93	3.28	3.44	3.85	4.45	5.13	6.23	7.16	7.8	8.85
	2.85	2.94	3.35	4.03	4.63	5.15	6.25	7.01	8.23	8.31
3.06	3.26	3.44	4.01	4.29	5.40	5.9	6.99	7.67	8.55	
T3R 3	2.97	3.59	3.67	3.96	4.44	5.28	6.29	6.89	7.22	8.11
	3.19	3.36	3.24	3.93	5.00	5.27	6.38	6.67	7.21	8.83
	3.06	2.83	3.48	3.87	4.16	5.16	5.9	7.05	7.59	7.92
	3.28	3.37	4.3	4.48	4.48	5.03	6.09	6.67	8.3	9.57
	3.43	3.32	3.46	3.94	4.59	5.49	6.22	6.94	7.75	8.21
	2.93	3.37	3.22	4.7	4.51	5.21	5.87	6.89	8.31	8.31
	3.19	3.44	4.42	3.73	4.94	5.12	5.93	7.46	7.91	9.45
	2.93	3.47	3.25	4.39	4.57	5.14	6.22	7.14	8.03	8.49
	2.75	2.71	3.61	4.33	4.80	5.27	5.81	6.64	7.07	8.72
3.29	3.45	3.64	4.02	5.15	5.40	6.16	7.37	7.37	7.9	
T3R 4	3.15	3.18	3.32	4.02	4.11	5.26	6.49	6.75	8.43	8.01
	3.42	3.17	3.56	3.73	4.91	5.49	6.11	7.05	7.82	8.45
	3.30	2.87	3.67	4.96	4.99	5.34	6.28	6.68	5.25	7.98
	3.43	3.18	3.59	3.98	4.26	5.49	6.16	7.11	8.2	9.04
	3.33	3.61	3.77	3.85	5.07	5.26	5.98	6.77	8.39	8.69
	2.98	3.57	3.74	4.17	4.91	5.04	6.4	7.09	7.45	8.39
	2.75	3.18	4.78	3.82	4.66	5.11	5.91	6.62	6.82	8.74
	3.13	3.19	3.32	4.46	5.42	5.45	6.38	7.18	7.97	8.59
	3.41	3.71	3.34	3.71	4.24	5.03	6.01	7.25	8.51	7.94
3.29	3.5	4.71	4.13	4.29	5.13	5.82	7.37	7.6	8.34	
T4R 1	2.86	3.39	3.74	4.33	4.60	5.20	5.92	7.55	8.8	8.99
	3.22	3.33	4.11	4.26	4.89	5.12	6.03	7.63	7.61	8.86
	3.00	2.84	3.51	4.13	5.71	5.10	6.12	7.48	8.01	8.51

	3.20	3.46	3.26	4.21	4.74	5.35	6.5	6.67	7.82	8.69
	2.98	2.81	4.62	5.02	5.74	5.46	6.1	7.31	7.2	8.74
	3.35	3.65	4.16	4.16	5.00	5.33	6.02	6.96	7.98	8.72
	2.94	3.37	3.14	5.93	4.96	5.40	6.2	7.49	8.65	8.29
	3.43	3.26	4.34	3.78	4.93	5.13	6.02	6.82	7.32	8.38
	3.16	3.19	3.43	4.41	5.15	5.21	5.88	6.86	8.14	7.88
	2.77	3.27	3.69	3.99	4.30	5.42	5.8	7.22	8.63	8.22
T4R 2	2.96	3.15	3.5	5.1	4.57	5.36	6.45	7.01	8.22	8.47
	3.23	3.51	3.48	4.47	4.56	5.47	5.89	7.68	7.52	8.43
	3.32	3.47	4.11	3.98	3.92	4.95	6.47	6.81	7.41	8.76
	3.21	3.36	3.72	4.44	4.48	5.17	6.15	6.99	8.2	7.9
	3.38	3.78	4.37	4.36	4.04	5.09	5.84	6.75	8.32	7.98
	3.32	3.6	4.62	5.28	4.23	5.17	6.18	6.6	7.51	8.66
	3.14	3.8	3.7	4.05	4.45	5.39	6.15	7.68	8.01	8.06
	2.77	3.61	3.75	3.98	4.75	5.13	6.15	6.73	7.32	8.86
	3.33	3.41	4.27	4.06	4.40	5.08	6.43	6.89	7.73	8.56
	3.15	3.35	3.16	5.47	3.92	5.36	6.32	6.93	8.25	8.28
T4R 3	2.89	3.73	3.32	3.76	4.69	5.08	5.81	6.95	8.12	8.95
	2.86	3.24	4.78	5.49	4.86	5.40	6.19	6.89	7.82	8.43
	3.45	2.76	3.62	4.17	4.51	5.31	6.46	6.74	7.64	8.87
	2.75	3.59	3.62	4.17	4.68	5.09	6.32	7.64	8.11	9.02
	3.33	3.83	3.8	4.38	4.73	5.03	6.28	7.11	8.32	7.96
	3.21	3.26	3.71	5.92	4.67	5.22	6.26	7.2	7.4	8.27
	3.44	3.33	3.7	4.42	4.78	5.49	5.81	7.29	6.8	8.68
	3.06	2.95	3.41	3.77	4.98	5.02	5.88	7.06	7.8	8.97
	2.75	3.62	3.36	4.16	4.77	5.00	6.1	6.6	8.32	7.91
	3.06	3.12	4.15	4.49	4.83	5.40	6.24	6.63	7.51	8.1
T4R 4	2.94	3.7	3.44	4.25	4.99	5.13	5.95	6.71	7.84	8.28
	3.34	3.41	3.42	3.73	4.88	5.19	5.88	7.1	6.61	8.31
	3.28	3.11	3.55	3.88	4.71	5.18	6.29	7.05	8.22	8.95
	3.43	3.66	4.22	5	4.67	5.08	6.25	6.81	7.52	8.68
	3.13	3.47	3.68	4.13	4.64	5.17	6.05	7.03	7.84	8.99
	2.79	3.17	4.32	4.71	4.60	5.19	5.83	6.7	6.7	8.55
	2.99	2.77	4.34	3.87	4.90	5.12	6.42	7.01	7.32	8.57
	3.06	3.19	3.74	4.19	4.73	5.22	6.49	6.89	7.72	8.76
	3.14	3.21	4.14	4.23	4.98	5.47	6.11	6.71	7.72	8.1
	3.10	2.91	3.56	4.44	4.60	4.98	6.45	6.95	8.71	8.46

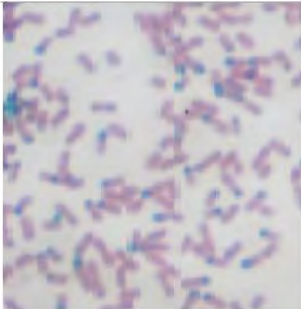
Anexo B.

Pruebas bioquímicas C1

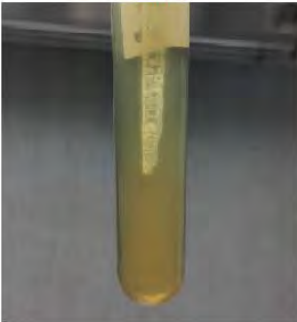
TINCION DE GRAM



TINCION ENDOSPORAS



SIM



CATALAZA



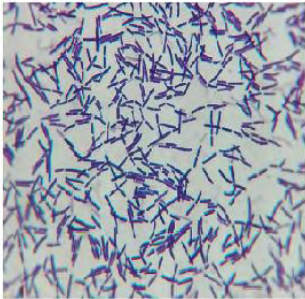
MAC CONKEY



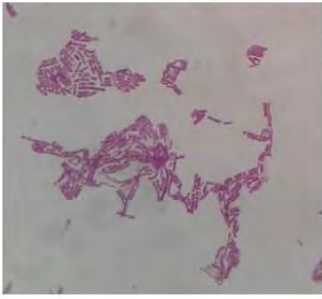
Anexo C.

Pruebas bioquímicas C2

TINCION DE GRAM



TINCION ENDOSPORAS



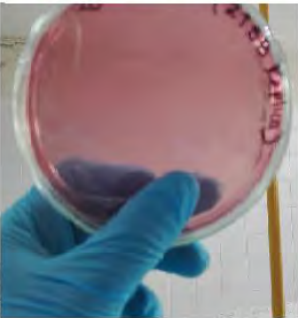
SIM



CATALAZA



MAC CONKEY



Anexo D.

Anova peso.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem1

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,000 ^a	4	7.500E-05	.064	.992
Intercept	5.151	1	5.151	4421.567	.000
Trat	.000	4	7.500E-05	.064	.992
Error	.017	15	.001		
Total	5.169	20			
Corrected Total	.018	19			

a. R Squared = ,017 (Adjusted R Squared = -,245)

Descriptive Statistics

Dependent Variable: sem1

Trat	Mean	Std. Deviation	N
T0	.50750	.026300	4
T1	.51500	.023805	4
T2	.50500	.045092	4
T3	.50500	.034157	4
T4	.50500	.036968	4
Total	.50750	.030586	20

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: sem1

F	df1	df2	Sig.
.384	4	15	.817

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Trat

ANOVA TALLA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem1

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,028 ^a	4	.007	.496	.739
Intercept	191.395	1	191.395	13351.576	.000
Trat	.028	4	.007	.496	.739
Error	.215	15	.014		
Total	191.638	20			
Corrected Total	.243	19			

a. R Squared = ,117 (Adjusted R Squared = -,119)

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Sem1

Trat	Mean	Std. Deviation	N
T0	3.11000	.042426	4
T1	3.02000	.129872	4
T2	3.12250	.205000	4
T3	3.09750	.094648	4
T4	3.11750	.045000	4
Total	3.09350	.113196	20

Dependent Variable: Sem1

F	df1	df2	Sig.
2.607	4	15	.078

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Trat

Anexo E. Estadístico semana 1 - 5.

Anova Semana 1

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem2

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,006 ^a	4	.002	1.171	.363
Intercept	7.188	1	7.188	5593.778	.000
Trat	.006	4	.002	1.171	.363
Error	.019	15	.001		
Total	7.213	20			
Corrected Total	.025	19			

a. R Squared = ,238 (Adjusted R Squared = ,035)

Anova Semana 2

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem3

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,007 ^a	4	.002	.541	.708
Intercept	9.494	1	9.494	2921.360	.000
Trat	.007	4	.002	.541	.708
Error	.049	15	.003		
Total	9.550	20			
Corrected Total	.056	19			

a. R Squared = ,126 (Adjusted R Squared = -,107)

Anova Semana 3

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem4

Source	Type III Sum of	Df	Mean Square	F	Sig.
--------	-----------------	----	-------------	---	------

	Squares				
Corrected Model	,017 ^a	4	.004	.542	.708
Intercept	27.707	1	27.707	3476.359	.000
Trat	.017	4	.004	.542	.508
Error	.120	15	.008		
Total	27.843	20			
Corrected Total	.137	19			

a. R Squared = ,126 (Adjusted R Squared = -,107)

Anova Semana 4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem5

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,449 ^a	4	.112	2.628	.076
Intercept	44.075	1	44.075	1031.110	.000
Trat	.449	4	.112	2.628	.076
Error	.641	15	.043		
Total	45.165	20			
Corrected Total	1.090	19			

a. R Squared = ,412 (Adjusted R Squared = ,255)

Anexo F. Análisis estadístico Peso semana 5 – semana 9.

Semana 5

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem6

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2,250 ^a	4	.562	5.289	.007
Intercept	115.777	1	115.777	1088.673	.000
Trat	2.250	4	.562	5.289	.007
Error	1.595	15	.106		
Total	119.622	20			
Corrected Total	3.845	19			

a. R Squared = ,585 (Adjusted R Squared = ,474)

Tukey semana 5

Multiple Comparisons

Dependent Variable:
Tukey HSD

Variable:

sem6

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	.16250	.230593	.952	-.54956	.87456
	T2	-.50750	.230593	.232	-1.21956	.20456
	T3	-.72750*	.230593	.044	-1.43956	-.01544
	T4	-.48250	.230593	.273	-1.19456	.22956
T1	T0	-.16250	.230593	.952	-.87456	.54956
	T2	-.67000	.230593	.070	-1.38206	.04206
	T3	-.89000*	.230593	.011	-1.60206	-.17794
	T4	-.64500	.230593	.085	-1.35706	.06706
T2	T0	.50750	.230593	.232	-.20456	1.21956
	T1	.67000	.230593	.070	-.04206	1.38206
	T3	-.22000	.230593	.871	-.93206	.49206
	T4	.02500	.230593	1.000	-.68706	.73706
T3	T0	.72750*	.230593	.044	.01544	1.43956
	T1	.89000*	.230593	.011	.17794	1.60206

	T2	.22000	.230593	.871	-.49206	.93206
	T4	.24500	.230593	.822	-.46706	.95706
T4	T0	.48250	.230593	.273	-.22956	1.19456
	T1	.64500	.230593	.085	-.06706	1.35706
	T2	-.02500	.230593	1.000	-.73706	.68706
	T3	-.24500	.230593	.822	-.95706	.46706

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,106.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 6

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem7

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2,475 ^a	4	.619	11.587	.000
Intercept	198.513	1	198.513	3717.356	.000
Trat	2.475	4	.619	11.587	.000
Error	.801	15	.053		
Total	201.789	20			
Corrected Total	3.276	19			

a. R Squared = ,755 (Adjusted R Squared = ,690)

Tukey semana 6

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sem7

Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	.12500	.163404	.937	-.37958	.62958
	T2	-.20000	.163404	.738	-.70458	.30458
	T3	-.65250*	.163404	.009	-1.15708	-.14792
	T4	-.76250*	.163404	.002	-1.26708	-.25792
T1	T0	-.12500	.163404	.937	-.62958	.37958

T2	T2	-.32500	.163404	.317	-.82958	.17958
	T3	-.77750*	.163404	.002	-1.28208	-.27292
	T4	-.88750*	.163404	.001	-1.39208	-.38292
	T0	.20000	.163404	.738	-.30458	.70458
T3	T1	.32500	.163404	.317	-.17958	.82958
	T3	-.45250	.163404	.089	-.95708	.05208
	T4	-.56250*	.163404	.026	-1.06708	-.05792
	T0	.65250*	.163404	.009	.14792	1.15708
T4	T1	.77750*	.163404	.002	.27292	1.28208
	T2	.45250	.163404	.089	-.05208	.95708
	T4	-.11000	.163404	.959	-.61458	.39458
	T0	.76250*	.163404	.002	.25792	1.26708
	T1	.88750*	.163404	.001	.38292	1.39208
	T2	.56250*	.163404	.026	.05792	1.06708
	T3	.11000	.163404	.959	-.39458	.61458

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,053.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 7

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem8

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2,814 ^a	4	.704	65.531	.000
Intercept	351.122	1	351.122	32703.074	.000
Trat	2.814	4	.704	65.531	.000
Error	.161	15	.011		
Total	354.097	20			
Corrected Total	2.975	19			

a. R Squared = ,946 (Adjusted R Squared = ,931)

Tukey semana 7

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sem8

Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	-.19000	.073269	.122	-.41625	.03625
	T2	-.11750	.073269	.517	-.34375	.10875
	T3	-.71250*	.073269	.000	-.93875	-.48625
	T4	-.96750*	.073269	.000	-1.19375	-.74125
T1	T0	.19000	.073269	.122	-.03625	.41625
	T2	.07250	.073269	.856	-.15375	.29875
	T3	-.52250*	.073269	.000	-.74875	-.29625
	T4	-.77750*	.073269	.000	-1.00375	-.55125
T2	T0	.11750	.073269	.517	-.10875	.34375
	T1	-.07250	.073269	.856	-.29875	.15375
	T3	-.59500*	.073269	.000	-.82125	-.36875
	T4	-.85000*	.073269	.000	-1.07625	-.62375
T3	T0	.71250*	.073269	.000	.48625	.93875
	T1	.52250*	.073269	.000	.29625	.74875
	T2	.59500*	.073269	.000	.36875	.82125
	T4	-.25500*	.073269	.024	-.48125	-.02875
T4	T0	.96750*	.073269	.000	.74125	1.19375
	T1	.77750*	.073269	.000	.55125	1.00375
	T2	.85000*	.073269	.000	.62375	1.07625
	T3	.25500*	.073269	.024	.02875	.48125

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,011.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem9

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected	5,714 ^a	4	1.428	50.788	.000

Model					
Intercept	555.353	1	555.353	19745.870	.000
Trat	5.714	4	1.428	50.788	.000
Error	.422	15	.028		
Total	561.488	20			
Corrected Total	6.135	19			

a. R Squared = ,931 (Adjusted R Squared = ,913)

Tukey semana 8

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sem9

Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	-.17750	.118585	.580	-.54368	.18868
	T2	-.04500	.118585	.995	-.41118	.32118
	T3	-.87000*	.118585	.000	-1.23618	-.50382
	T4	-1,35500*	.118585	.000	-1.72118	-.98882
T1	T0	.17750	.118585	.580	-.18868	.54368
	T2	.13250	.118585	.795	-.23368	.49868
	T3	-.69250*	.118585	.000	-1.05868	-.32632
	T4	-1,17750*	.118585	.000	-1.54368	-.81132
T2	T0	.04500	.118585	.995	-.32118	.41118
	T1	-.13250	.118585	.795	-.49868	.23368
	T3	-.82500*	.118585	.000	-1.19118	-.45882
	T4	-1,31000*	.118585	.000	-1.67618	-.94382
T3	T0	,87000*	.118585	.000	.50382	1.23618
	T1	,69250*	.118585	.000	.32632	1.05868
	T2	,82500*	.118585	.000	.45882	1.19118
	T4	-,48500*	.118585	.007	-.85118	-.11882
T4	T0	1,35500*	.118585	.000	.98882	1.72118
	T1	1,17750*	.118585	.000	.81132	1.54368
	T2	1,31000*	.118585	.000	.94382	1.67618
	T3	,48500*	.118585	.007	.11882	.85118

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,028.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 9

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sem10

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8,210 ^a	4	2.053	61.879	.000
Intercept	779.251	1	779.251	23492.652	.000
Trat	8.210	4	2.053	61.879	.000
Error	.498	15	.033		
Total	787.959	20			
Corrected Total	8.708	19			

a. R Squared = ,943 (Adjusted R Squared = ,928)

Tukey semana 9

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sem10

Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	-.32750	.128783	.133	-.72517	.07017
	T2	-.12500	.128783	.864	-.52267	.27267
	T3	-.73500*	.128783	.000	-1.13267	-.33733
	T4	-1,77250*	.128783	.000	-2.17017	-1.37483
T1	T0	.32750	.128783	.133	-.07017	.72517
	T2	.20250	.128783	.535	-.19517	.60017
	T3	-.40750*	.128783	.043	-.80517	-.00983
	T4	-1,44500*	.128783	.000	-1.84267	-1.04733
T2	T0	.12500	.128783	.864	-.27267	.52267
	T1	-.20250	.128783	.535	-.60017	.19517
	T3	-.61000*	.128783	.002	-1.00767	-.21233
	T4	-1,64750*	.128783	.000	-2.04517	-1.24983
T3	T0	,73500*	.128783	.000	.33733	1.13267
	T1	,40750*	.128783	.043	.00983	.80517

T4	T2	,61000*	.128783	.002	.21233	1.00767
	T4	-1,03750*	.128783	.000	-1.43517	-.63983
	T0	1,77250*	.128783	.000	1.37483	2.17017
	T1	1,44500*	.128783	.000	1.04733	1.84267
	T2	1,64750*	.128783	.000	1.24983	2.04517
	T3	1,03750*	.128783	.000	.63983	1.43517

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,033.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Anexo G. Análisis estadístico Talla semana 1 – semana 9

Semana 1

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem2

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,020 ^a	4	.005	.763	.566
Intercept	216.811	1	216.811	33920.906	.000
Trat	.019	4	.005	.763	.566
Error	.096	15	.006		
Total	216.927	20			
Corrected Total	.115	19			

a. R Squared = ,169 (Adjusted R Squared = -,053)

Semana 2.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem3

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,344 ^a	4	.086	7.169	.002
Intercept	266.085	1	266.085	22170.681	.000
Trat	.344	4	.086	7.169	.002
Error	.180	15	.012		
Total	266.609	20			
Corrected Total	.524	19			

a. R Squared = ,657 (Adjusted R Squared = ,565)

Multiple Comparisons
 Dependent Variable: Sem3
 Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	-.23500	.077465	.055	-.47421	.00421
	T2	-,30000*	.077465	.011	-.53921	-.06079
	T3	-.21750	.077465	.084	-.45671	.02171
	T4	-,39750*	.077465	.001	-.63671	-.15829
T1	T0	.23500	.077465	.055	-.00421	.47421
	T2	-.06500	.077465	.914	-.30421	.17421
	T3	.01750	.077465	.999	-.22171	.25671
	T4	-.16250	.077465	.271	-.40171	.07671
T2	T0	,30000*	.077465	.011	.06079	.53921
	T1	.06500	.077465	.914	-.17421	.30421
	T3	.08250	.077465	.821	-.15671	.32171
	T4	-.09750	.077465	.719	-.33671	.14171
T3	T0	.21750	.077465	.084	-.02171	.45671
	T1	-.01750	.077465	.999	-.25671	.22171
	T2	-.08250	.077465	.821	-.32171	.15671
	T4	-.18000	.077465	.191	-.41921	.05921
T4	T0	,39750*	.077465	.001	.15829	.63671
	T1	.16250	.077465	.271	-.07671	.40171
	T2	.09750	.077465	.719	-.14171	.33671
	T3	.18000	.077465	.191	-.05921	.41921

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,012.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 3.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem4

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,429 ^a	4	.107	9.629	.000
Intercept	345.530	1	345.530	31012.402	.000

Trat	.429	4	.107	9.629	.000
Error	.167	15	.011		
Total	346.126	20			
Corrected Total	.596	19			

a. R Squared = ,720 (Adjusted R Squared = ,645)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Sem4

Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	-.13000	.074638	.440	-.36048	.10048
	T2	-.19250	.074638	.125	-.42298	.03798
	T3	-.19750	.074638	.111	-.42798	.03298
	T4	-.45000*	.074638	.000	-.68048	-.21952
T1	T0	.13000	.074638	.440	-.10048	.36048
	T2	-.06250	.074638	.915	-.29298	.16798
	T3	-.06750	.074638	.891	-.29798	.16298
	T4	-.32000*	.074638	.005	-.55048	-.08952
T2	T0	.19250	.074638	.125	-.03798	.42298
	T1	.06250	.074638	.915	-.16798	.29298
	T3	-.00500	.074638	1.000	-.23548	.22548
	T4	-.25750*	.074638	.025	-.48798	-.02702
T3	T0	.19750	.074638	.111	-.03298	.42798
	T1	.06750	.074638	.891	-.16298	.29798
	T2	.00500	.074638	1.000	-.22548	.23548
	T4	-.25250*	.074638	.029	-.48298	-.02202
T4	T0	.45000*	.074638	.000	.21952	.68048
	T1	.32000*	.074638	.005	.08952	.55048
	T2	.25750*	.074638	.025	.02702	.48798
	T3	.25250*	.074638	.029	.02202	.48298

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,011.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem5

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1,118 ^a	4	.279	8.303	.001
Intercept	416.785	1	416.785	12385.869	.000
Trat	1.118	4	.279	8.303	.001
Error	.505	15	.034		
Total	418.407	20			
Corrected Total	1.622	19			

a. R Squared = ,689 (Adjusted R Squared = ,606)

Multiple Comparisons
 Dependent Variable: Sem5
 Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	-,50250*	.129711	.011	-.90304	-.10196
	T2	-,58500*	.129711	.003	-.98554	-.18446
	T3	-,62500*	.129711	.002	-1.02554	-.22446
	T4	-,61250*	.129711	.002	-1.01304	-.21196
T1	T0	,50250*	.129711	.011	.10196	.90304
	T2	-.08250	.129711	.967	-.48304	.31804
	T3	-.12250	.129711	.875	-.52304	.27804
	T4	-.11000	.129711	.911	-.51054	.29054
T2	T0	,58500*	.129711	.003	.18446	.98554
	T1	.08250	.129711	.967	-.31804	.48304
	T3	-.04000	.129711	.998	-.44054	.36054
	T4	-.02750	.129711	.999	-.42804	.37304
T3	T0	,62500*	.129711	.002	.22446	1.02554
	T1	.12250	.129711	.875	-.27804	.52304
	T2	.04000	.129711	.998	-.36054	.44054
	T4	.01250	.129711	1.000	-.38804	.41304
T4	T0	,61250*	.129711	.002	.21196	1.01304
	T1	.11000	.129711	.911	-.29054	.51054
	T2	.02750	.129711	.999	-.37304	.42804
	T3	-.01250	.129711	1.000	-.41304	.38804

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,034.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 5

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem6

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,015 ^a	4	.004	1.723	.197
Intercept	543.195	1	543.195	247469.087	.000
Trat	.015	4	.004	1.723	.197
Error	.033	15	.002		
Total	543.243	20			
Corrected Total	.048	19			

a. R Squared = ,315 (Adjusted R Squared = ,132)

Multiple Comparisons
 Dependent Variable: Sem6
 Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	.05000	.033129	.572	-.05230	.15230
	T2	-.00750	.033129	.999	-.10980	.09480
	T3	-.03500	.033129	.825	-.13730	.06730
	T4	-.00250	.033129	1.000	-.10480	.09980
T1	T0	-.05000	.033129	.572	-.15230	.05230
	T2	-.05750	.033129	.443	-.15980	.04480
	T3	-.08500	.033129	.128	-.18730	.01730
	T4	-.05250	.033129	.528	-.15480	.04980
T2	T0	.00750	.033129	.999	-.09480	.10980
	T1	.05750	.033129	.443	-.04480	.15980
	T3	-.02750	.033129	.917	-.12980	.07480
	T4	.00500	.033129	1.000	-.09730	.10730
T3	T0	.03500	.033129	.825	-.06730	.13730
	T1	.08500	.033129	.128	-.01730	.18730
	T2	.02750	.033129	.917	-.07480	.12980
	T4	.03250	.033129	.860	-.06980	.13480
T4	T0	.00250	.033129	1.000	-.09980	.10480
	T1	.05250	.033129	.528	-.04980	.15480
	T2	-.00500	.033129	1.000	-.10730	.09730
	T3	-.03250	.033129	.860	-.13480	.06980

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,002.

Semana 6

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem7

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,118 ^a	4	.030	4.413	.015
Intercept	731.566	1	731.566	109406.692	.000
Trat	.118	4	.030	4.413	.015
Error	.100	15	.007		
Total	731.784	20			
Corrected Total	.218	19			

a. R Squared = ,541 (Adjusted R Squared = ,418)

Multiple Comparisons
 Dependent Variable: Sem7
 Tukey HSD

(I) Trat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
				Lower Bound	Upper Bound	
T0	T1	-.07250	.057822	.722	-.25105	.10605
	T2	-.05000	.057822	.905	-.22855	.12855
	T3	-,18500*	.057822	.041	-.36355	-.00645
	T4	-,19500*	.057822	.029	-.37355	-.01645
T1	T0	.07250	.057822	.722	-.10605	.25105
	T2	.02250	.057822	.995	-.15605	.20105
	T3	-.11250	.057822	.337	-.29105	.06605
	T4	-.12250	.057822	.263	-.30105	.05605
T2	T0	.05000	.057822	.905	-.12855	.22855
	T1	-.02250	.057822	.995	-.20105	.15605
	T3	-.13500	.057822	.188	-.31355	.04355
	T4	-.14500	.057822	.141	-.32355	.03355
T3	T0	,18500*	.057822	.041	.00645	.36355
	T1	.11250	.057822	.337	-.06605	.29105
	T2	.13500	.057822	.188	-.04355	.31355
	T4	-.01000	.057822	1.000	-.18855	.16855
T4	T0	,19500*	.057822	.029	.01645	.37355
	T1	.12250	.057822	.263	-.05605	.30105
	T2	.14500	.057822	.141	-.03355	.32355
	T3	.01000	.057822	1.000	-.16855	.18855

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,007.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 7

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem8

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1,068 ^a	4	.267	4.627	.012
Intercept	883.253	1	883.253	15309.011	.000
Trat	1.068	4	.267	4.627	.012
Error	.865	15	.058		
Total	885.187	20			
Corrected Total	1.933	19			

a. R Squared = ,552 (Adjusted R Squared = ,433)

Multiple Comparisons
 Dependent Variable: Sem8
 Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	.18750	.169846	.802	-.33697	.71197
	T2	.19500	.169846	.779	-.32947	.71947
	T3	-.15000	.169846	.899	-.67447	.37447
	T4	-.42250	.169846	.146	-.94697	.10197
T1	T0	-.18750	.169846	.802	-.71197	.33697
	T2	.00750	.169846	1.000	-.51697	.53197
	T3	-.33750	.169846	.318	-.86197	.18697
	T4	-.61000*	.169846	.019	-1.13447	-.08553
T2	T0	-.19500	.169846	.779	-.71947	.32947
	T1	-.00750	.169846	1.000	-.53197	.51697
	T3	-.34500	.169846	.299	-.86947	.17947
	T4	-.61750*	.169846	.018	-1.14197	-.09303
T3	T0	.15000	.169846	.899	-.37447	.67447
	T1	.33750	.169846	.318	-.18697	.86197
	T2	.34500	.169846	.299	-.17947	.86947
	T4	-.27250	.169846	.517	-.79697	.25197
T4	T0	.42250	.169846	.146	-.10197	.94697
	T1	.61000*	.169846	.019	.08553	1.13447
	T2	.61750*	.169846	.018	.09303	1.14197
	T3	.27250	.169846	.517	-.25197	.79697

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,058.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem9

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1,373 ^a	4	.343	5.097	.009
Intercept	1100.683	1	1100.683	16341.517	.000
Trat	1.373	4	.343	5.097	.009
Error	1.010	15	.067		
Total	1103.066	20			
Corrected Total	2.383	19			

a. R Squared = ,576 (Adjusted R Squared = ,463)

Multiple Comparisons
 Dependent Variable: Sem9
 Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	.17250	.183514	.877	-.39418	.73918
	T2	-.14250	.183514	.934	-.70918	.42418
	T3	-.34500	.183514	.368	-.91168	.22168
	T4	-.57750*	.183514	.045	-1.14418	-.01082
T1	T0	-.17250	.183514	.877	-.73918	.39418
	T2	-.31500	.183514	.454	-.88168	.25168
	T3	-.51750	.183514	.082	-1.08418	.04918
	T4	-.75000*	.183514	.007	-1.31668	-.18332
T2	T0	.14250	.183514	.934	-.42418	.70918
	T1	.31500	.183514	.454	-.25168	.88168
	T3	-.20250	.183514	.802	-.76918	.36418
	T4	-.43500	.183514	.177	-1.00168	.13168
T3	T0	.34500	.183514	.368	-.22168	.91168
	T1	.51750	.183514	.082	-.04918	1.08418
	T2	.20250	.183514	.802	-.36418	.76918
	T4	-.23250	.183514	.714	-.79918	.33418
T4	T0	.57750*	.183514	.045	.01082	1.14418
	T1	.75000*	.183514	.007	.18332	1.31668
	T2	.43500	.183514	.177	-.13168	1.00168
	T3	.23250	.183514	.714	-.33418	.79918

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,067.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Semana 9

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sem10

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1,980 ^a	4	.495	11.199	.000
Intercept	1291.385	1	1291.385	29220.165	.000
Trat	1.980	4	.495	11.199	.000
Error	.663	15	.044		
Total	1294.028	20			
Corrected Total	2.643	19			

a. R Squared = ,749 (Adjusted R Squared = ,682)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Sem10 Tukey HSD

(I) Trat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
				Lower Bound	Upper Bound	
T0	T1	-.05000	.148652	.997	-.50903	.40903
	T2	-.09000	.148652	.972	-.54903	.36903
	T3	-.58250*	.148652	.010	-1.04153	-.12347
	T4	-.76750*	.148652	.001	-1.22653	-.30847
T1	T0	.05000	.148652	.997	-.40903	.50903
	T2	-.04000	.148652	.999	-.49903	.41903
	T3	-.53250*	.148652	.020	-.99153	-.07347
	T4	-.71750*	.148652	.002	-1.17653	-.25847
T2	T0	.09000	.148652	.972	-.36903	.54903
	T1	.04000	.148652	.999	-.41903	.49903
	T3	-.49250*	.148652	.033	-.95153	-.03347
	T4	-.67750*	.148652	.003	-1.13653	-.21847
T3	T0	.58250*	.148652	.010	.12347	1.04153
	T1	.53250*	.148652	.020	.07347	.99153
	T2	.49250*	.148652	.033	.03347	.95153
	T4	-.18500	.148652	.727	-.64403	.27403
T4	T0	.76750*	.148652	.001	.30847	1.22653
	T1	.71750*	.148652	.002	.25847	1.17653
	T2	.67750*	.148652	.003	.21847	1.13653
	T3	.18500	.148652	.727	-.27403	.64403

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,044.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Anexo H. Supervivencia.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Muertos

Trat	Mean	Std. Deviation	N
T0	7.25	1.258	4
T1	11.50	2.517	4
T2	7.75	2.217	4
T3	9.00	6.377	4
T4	4.50	1.732	4
Total	8.00	3.798	20

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Muertos

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	104,500 ^a	4	26.125	2.312	.105
Intercept	1280.000	1	1280.000	113.274	.000
Trat	104.500	4	26.125	2.312	.105
Error	169.500	15	11.300		
Total	1554.000	20			
Corrected Total	274.000	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Muertos

Tukey HSD

(I) Trat		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T0	T1	-4.25	2.377	.415	-11.59	3.09
	T2	-.50	2.377	1.000	-7.84	6.84
	T3	-1.75	2.377	.944	-9.09	5.59
	T4	2.75	2.377	.775	-4.59	10.09
T1	T0	4.25	2.377	.415	-3.09	11.59
	T2	3.75	2.377	.532	-3.59	11.09
	T3	2.50	2.377	.828	-4.84	9.84
	T4	7.00	2.377	.065	-.34	14.34
T2	T0	.50	2.377	1.000	-6.84	7.84
	T1	-3.75	2.377	.532	-11.09	3.59
	T3	-1.25	2.377	.983	-8.59	6.09
	T4	3.25	2.377	.656	-4.09	10.59
T3	T0	1.75	2.377	.944	-5.59	9.09
	T1	-2.50	2.377	.828	-9.84	4.84
	T2	1.25	2.377	.983	-6.09	8.59
	T4	4.50	2.377	.362	-2.84	11.84
T4	T0	-2.75	2.377	.775	-10.09	4.59
	T1	-7.00	2.377	.065	-14.34	.34
	T2	-3.25	2.377	.656	-10.59	4.09
	T3	-4.50	2.377	.362	-11.84	2.84

Anexo I. Monitoreo Temperatura

temperatura		
mañana	tarde	noche
13,7	14,2	13,9
13,3	13,8	13,5
12,9	13,4	13,1
12,8	13,3	13
13,9	14,4	14,1
12,6	13,1	12,8
13,3	13,8	13,5
14,1	14,6	14,3
12,8	13,3	13
13,9	14,4	14,1
13,6	14,1	13,8
14,2	14,7	14,4
12,9	13,4	13,1
13,8	14,3	14
13,8	14,3	14
12	12,5	12,2
13,2	13,7	13,4
13,5	14	13,7
12,1	12,6	12,3
12,1	12,6	12,3
13,1	13,6	13,3
13,2	13,7	13,4
12	12,5	12,2
14	14,5	14,2
13,6	14,1	13,8
12,5	13	12,7
12,6	13,1	12,8
12,6	13,1	12,8
13,3	13,8	13,5
13,3	13,8	13,5
12,7	13,2	12,9
12,2	12,7	12,4
13,6	14,1	13,8
13,9	14,4	14,1
13	13,5	13,2
13,6	14,1	13,8
12	12,5	12,2
13,8	14,3	14

12,7	13,2	12,9
13,5	14	13,7
12,6	13,1	12,8
13,1	13,6	13,3
13,4	13,9	13,6
12,8	13,3	13
13,1	13,6	13,3
12,7	13,2	12,9
13,1	13,6	13,3
13,7	14,2	13,9
12,6	13,1	12,8
13,9	14,4	14,1
14,2	14,7	14,4
13,2	13,7	13,4
12,8	13,3	13
13,3	13,8	13,5
14,3	14,8	14,5
12,5	13	12,7
12,5	13	12,7
13,7	14,2	13,9
12,5	13	12,7
12,8	13,3	13

Anexo J. Monitoreo Oxígeno disuelto

Oxígeno Disuelto		
mañana	tarde	noche
7,1	7,02	7,1
7,1	7,13	7,15
7,1	7,02	7,19
7,2	7,02	7,08
7,13	7,11	7,19
7	7,05	7,16
7,3	7,13	7,02
7,3	7	7,08
7,2	7,09	7,08
7,2	7,17	7,08
7,2	7,19	7,09
7,1	7,14	7,09
7	7,04	7,04
7	7,04	7
7,3	7,19	7,1
7,4	7,14	7,15
7	7,1	7,01
7,1	7,01	7,1
7	7,06	7,04
7,1	7,14	7,08
7,2	7,18	7,06
7,3	7,17	7,18
7,2	7,2	7,06
7,5	7,2	7,09
7,3	7,01	7,19
7,3	7,18	7
7,2	7,13	7,1
7,5	7,05	7,02
7,4	7,1	7,15
7	7,13	7,04
7,2	7,17	7,13
7	7,08	7
7,4	7,13	7,03
7,2	7,13	7,11
7,2	7,12	7,11
7,1	7,08	7,04
7,5	7,07	7,04
7,1	7,19	7,18

7,4	7,2	7
7	7,17	7,01
7,5	7,17	7,07
7,3	7,19	7,16
7,2	7,17	7,2
7,3	7,18	7,04
7,4	7,06	7,08
7,2	7	7,11
7,3	7,09	7,11
7,5	7,03	7,13
7,5	7	7,11
7	7,02	7,08
7,1	7,08	7,08
7,3	7,14	7,09
7	7,02	7,11
7,1	7,03	7,01
7	7,06	7,09
7,2	7,03	7,05
7,2	7,04	7,05
7,2	7,04	7,1
7	7,04	7,02
7	7,04	7,09

Anexo K. Monitoreo pH

pH		
mañana	tarde	noche
7,03	7,03	7,03
7,01	7,01	7,01
7,03	7,04	7,05
7,01	7,02	7,03
7	7,01	7,02
7,03	7,04	7,05
7,03	7,04	7,05
7,02	7,03	7,04
7	7	7
7,03	7,03	7,03
7,02	7,03	7,04
7,03	7,04	7,05
7,02	7,03	7,04
7	7,01	7,02
7,03	7,04	7,03
7	7,01	7
7,03	7,04	7,03
7	7,01	7
7,02	7,03	7,02
7,03	7,04	7,03
7,03	7,04	7,03
7,01	7,02	7,01
7,01	7,02	7,01
7,02	7,03	7,02
7,02	7,03	7,02
7	7,01	7
7,03	7,04	7,03
7	7,01	7
7,02	7,03	7,02
7,02	7,03	7,02
7,01	7,02	7,01
7,02	7,03	7,02
7	7,01	7
7,01	7,02	7,01
7,03	7,04	7,03
7,02	7,03	7,02
7,01	7,02	7,01
7	7,01	7

7	7,01	7
7,03	7,04	7,03
7	7,01	7
7	7,01	7
7,02	7,03	7,02
7,02	7,03	7,02
7,03	7,04	7,03
7,01	7,02	7,01
7,02	7,03	7,02
7	7,01	7
7,02	7,03	7,02
7,01	7,02	7,01
7,01	7,02	7,01
7,01	7,02	7,01
7	7,01	7
7	7,01	7
7	7,01	7
7,02	7,03	7,02
7	7,01	7
7	7,01	7
7,02	7,03	7,02
7,01	7,02	7,01