



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: “EFECTO DE UN COMPLEJO BACTERIANO A BASE DE *Bacillus*  
*sp.* y *Paracoccus sp.* EN LA PRODUCTIVIDAD DE TRUCHA ARCOÍRIS  
(*Oncorhynchus mykiss.*) EN LA HACIENDA EL PRADO”**

**AUTOR: PÉREZ ARGOTI, LUIS MIGUEL**

**DIRECTOR: DR. ORTIZ TIRADO, JUAN CRISTÓBAL**

**SANGOLQUÍ**

**2020**



**ESPE**

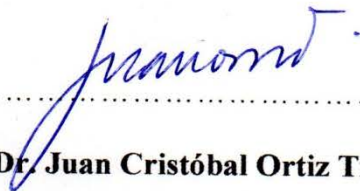
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación, ***“EFECTO DE UN COMPLEJO BACTERIANO A BASE DE Bacillus sp. y Paracoccus sp. EN LA PRODUCTIVIDAD DE TRUCHA ARCOÍRIS (Oncorhynchus mykiss.) EN LA HACIENDA EL PRADO”*** fue realizado por el señor ***Pérez Argoti, Luis Miguel*** el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

**Sangolquí, 17 enero del 2020**

  
.....  
**Dr. Juan Cristóbal Ortiz Tirado**

C.I: 170999816-3



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

ii

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD**

Yo, *Pérez Argoti, Luis Miguel*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *"Efecto de un complejo bacteriano a base de Bacillus sp. y Paracoccus sp. en la productividad de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss.) en la Hacienda El Prado"* es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

**Sangolquí, 17 enero del 2020**

.....  
**Pérez Argoti Luis Miguel**

C.I: 172229014-3



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**AUTORIZACIÓN**

Yo, *Pérez Argoti, Luis Miguel* autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: "*Efecto de un complejo bacteriano a base de Bacillus sp. y Paracoccus sp. en la productividad de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss.) en la Hacienda El Prado*" en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

**Sangolquí, 17 enero del 2020**

A handwritten signature in blue ink is positioned above a dotted line. The signature is stylized and appears to read 'Luis Miguel Pérez Argoti'.

**Pérez Argoti Luis Miguel**

C.I: 172229014-3

## DEDICATORIA

A mis padres, por el esfuerzo y la dedicación diaria por verme crecer profesionalmente y personalmente, por su entrega incondicional y por su ayuda en todos los momentos difíciles de mi vida.

A mis hermanos, que son mis mejores amigos y siempre han estado a mi lado. A mis abuelitos, primos, tíos, amigos que han formado parte fundamental de mi vida.

Luis Miguel Pérez A.

## AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer inmensamente al Doctor Juan Ortiz por su apoyo, dedicación enseñanza y por la amistad que en el tiempo de trabajo hemos llegado a tener. A la Ingeniera Daysi Muñoz, por su ayuda y predisposición en la realización del estudio.

A mis amigos, Adrián, Sebastián Delgado, Paúl, Silvana, Pao, Lizbeth, Sebastián Cueva, Emili, que siempre estuvieron ayudándome en la realización de esta investigación.

A mis padres y hermanos por el apoyo infinito en esta hermosa etapa de mi vida, por siempre guiarme y aconsejarme.

Agradezco a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por acogerme durante todos estos años en sus instalaciones, a mis profesores, trabajadores y demás personas especiales que conocí en estos años. A mis amigos Vivi, Kevin, Gaby, Nady, Sebas, Xavi, por haber compartido una etapa tan importante de mi vida.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

### CARÁTULA

CERTIFICACIÓN .....	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD .....	ii
AUTORIZACIÓN .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	vi
ÍNDICE DE TABLAS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xii
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv

### CAPÍTULO I

#### INTRODUCCIÓN

1.1	Antecedentes .....	1
1.2	Justificación .....	2
1.3	Planteamiento del problema .....	3
1.4	Objetivos .....	4
1.5	Hipótesis .....	5

### CAPÍTULO II

#### MARCO REFERENCIAL

2.1	La acuicultura a nivel mundial .....	6
2.2	La acuicultura en Ecuador .....	6
2.3	Trucha arcoíris .....	7
2.3.1	Origen y distribución .....	7
2.3.2	Morfología .....	7
2.3.3	Alimentación .....	8
2.3.4	Parámetros físico – químicos del agua para el cultivo de trucha arcoíris .....	8
2.3.5	Trucha arcoíris en el Ecuador .....	9
2.4	Probióticos en la acuicultura .....	10
2.4.1	Definición de probiótico .....	10

	vii
2.4.2	Situación actual de los probióticos ..... 11
2.4.3	Mecanismo de acción..... 12
2.4.3.1	Producción de agentes inhibidores ..... 12
2.4.3.2	Competencia por espacio a nivel intestinal..... 12
2.4.3.3	Aumento de la respuesta inmune ..... 13
2.4.4	FreshPlus..... 13
2.4.4.1	<i>Bacillus</i> sp..... 13
2.4.4.1.1	Generalidades..... 13
2.4.4.1.2	Interés industrial ..... 14
2.4.4.2	<i>Paracoccus</i> sp..... 14
2.4.4.2.1	Generalidades..... 14
2.4.4.2.2	Importancia industrial..... 14
2.4.4.3	Beneficios al utilizar el producto FreshPlus ..... 15
2.4.4.4	Recomendaciones de uso para FreshPlus ..... 15
2.4.4.5	Almacenaje y manejo de FreshPlus ..... 15

### **CAPÍTULO III**

#### **METODOLOGÍA**

3.1	Ubicación de la investigación ..... 16
3.1.1	Ubicación Política..... 16
3.1.2	Ubicación geográfica ..... 16
3.2	Material experimental ..... 17
3.2.1	Biológicos ..... 17
3.2.2	Insumos de campo ..... 17
3.2.3	Equipos ..... 17
3.2.4	Insumos laboratorio ..... 18
3.2.5	Reactivos..... 19
3.3	Métodos ..... 20
3.3.1	Instalación del ensayo ..... 20
3.3.2	Siembra de peces ..... 20
3.3.3	Alimentación de peces ..... 21
3.4	Diseño experimental ..... 22
3.4.1	Factores..... 22



		viii
3.4.2	Tratamientos .....	22
3.4.3	Modelo del diseño experimental.....	22
3.4.4	Unidades experimentales (UE).....	23
3.4.5	Distribución del experimento.....	23
3.5	Variables a medir .....	23
3.5.1	Variables métricas.....	23
3.5.1.1	Masa corporal (peso en gramos).....	23
3.5.1.2	Talla (cm).....	23
3.5.2	Parámetros Productivos .....	23
3.5.2.1	Ganancia de peso (g/d) .....	23
3.5.2.2	Tasa de crecimiento específico (TCE).....	24
3.5.2.3	Factor de conversión alimenticia .....	24
3.5.2.4	Eficiencia alimenticia (EA) .....	24
3.5.2.5	Índice de condición corporal.....	24
3.5.3	Variables hematológicas .....	25
3.5.3.1	Toma de muestra de sangre .....	25
3.5.3.2	Análisis de Hematocrito.....	25
3.5.3.3	Análisis de Hemoglobina (Hb) .....	26
3.5.3.4	Análisis de Glucosa (Gluc).....	27
3.5.3.5	Análisis de Proteína total (PT).....	27
3.5.3.6	Albumina (Alb).....	28
3.5.3.7	Globulina (Glob).....	29
3.5.4	Análisis microbiológicos del intestino.....	29
3.5.4.1	Toma de muestras .....	30
3.5.4.2	Siembra de microorganismos.....	30
3.5.4.3	Identificación bacteriana.....	31
3.6	Análisis estadístico .....	32
3.7	Análisis de indicadores financieros .....	32

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1	Variables métricas.....	33
4.1.1	Masa corporal .....	33

		ix
4.1.2	Longitud total y ancho total.....	35
4.2	Parámetros productivos.....	38
4.2.1	Ganancia de peso (GP) e índice de condición corporal (ICC).....	38
4.2.2	Tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA) y eficiencia alimenticia (EA) .....	40
4.3	Variables hematológicas.....	42
4.3.1	Hematocrito, hemoglobina y glucosa. ....	42
4.3.2	Proteína total (PT), albúmina (Alb) y globulina (Gb) .....	43
4.4	Análisis microbiológicos .....	44
4.5	Análisis económico.....	47
4.5.1	Infraestructura y equipos .....	47
4.5.2	Costos de producción.....	47
4.5.3	Ingresos.....	48
4.5.4	Flujo de caja.....	49

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1	Conclusiones.....	53
5.2	Recomendaciones .....	54
5.3	Bibliografía.....	55

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	<i>Parámetros físico – químicos del agua para el cultivo de trucha arcoíris.....</i>	9
<b>Tabla 2</b>	<i>Principales microorganismos probióticos usados en salmónidos.....</i>	12
<b>Tabla 3</b>	<i>Tabla de alimentación para trucha arcoíris contemplando una temperatura del agua de 12°C.....</i>	21
<b>Tabla 4</b>	<i>Descripción de tratamientos.....</i>	22
<b>Tabla 5</b>	<i>Pruebas bioquímicas para identificación bacteriana.....</i>	31
<b>Tabla 6</b>	<i>ANOVA para un DBCA con 4 tratamientos y 3 repeticiones.....</i>	32
<b>Tabla 7</b>	<i>Medias <math>\pm</math> desviación estándar del peso corporal de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de inclusión de probiótico durante el experimento ....</i>	33
<b>Tabla 8</b>	<i>Medias <math>\pm</math> desviación estándar del peso corporal de <i>Oncorhynchus mykiss</i>.....</i>	34
<b>Tabla 9</b>	<i>Media <math>\pm</math> error estándar de la longitud total y ancho total de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico.....</i>	36
<b>Tabla 10</b>	<i>Promedio <math>\pm</math> error estándar del largo total y ancho total de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico.....</i>	37
<b>Tabla 11</b>	<i>Promedio <math>\pm</math> desviación estándar de índice de condición corporal de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento.....</i>	38
<b>Tabla 12</b>	<i>Promedio <math>\pm</math> desviación estándar de índice de condición corporal de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento.....</i>	39
<b>Tabla 13</b>	<i>Media <math>\pm</math> DE de tasa de crecimiento específico, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento.....</i>	40
<b>Tabla 14</b>	<i>Media <math>\pm</math> desviación estándar de tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA) y eficiencia alimenticia (EA) de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico.....</i>	41
<b>Tabla 15</b>	<i>Promedio <math>\pm</math> desviación estándar de tasa de hematocrito, hemoglobina y glucosa de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento.....</i>	42
<b>Tabla 16</b>	<i>Medias <math>\pm</math> desviación estándar de proteína total, albúmina y globulina de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementada en dieta con cuatro niveles de probiótico.....</i>	43

<b>Tabla 17</b>	<i>Resultados de las pruebas bioquímicas realizadas a las bacterias prevalentes del tracto digestivo de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo el efecto de cuatro dosis de inclusión de probiótico.....</i>	45
<b>Tabla 18</b>	<i>Géneros bacterianos prevalentes del tracto digestivo de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo el efecto de cuatro dosis de inclusión de probiótico.....</i>	46
<b>Tabla 19</b>	<i>Inversiones para el proyecto.....</i>	47
<b>Tabla 20</b>	<i>Costos operativos para un año de cultivo de trucha arcoíris bajo el efecto de cuatro niveles de inclusión de probiótico .....</i>	48
<b>Tabla 21</b>	<i>Costo e ingreso anual en el cultivo de trucha arcoíris bajo el efecto de 4 niveles de inclusión .....</i>	49
<b>Tabla 22</b>	<i>Flujo de caja para para una producción con 0 g de inclusión de probiótico en el alimento.....</i>	49
<b>Tabla 23</b>	<i>Flujo de caja para para una producción con 5 g de inclusión de probiótico en el alimento.....</i>	50
<b>Tabla 24</b>	<i>Flujo de caja para para una producción con 10 g de inclusión de probiótico en el alimento.....</i>	50
<b>Tabla 25</b>	<i>Flujo de caja para para una producción con 15 g de inclusión de probiótico en el alimento.....</i>	50
<b>Tabla 26</b>	<i>Indicadores financieros para una producción acuícola con cuatro niveles de inclusión de probiótico en la dieta.....</i>	51

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b><i>Figura 1</i></b>	Proyecto Acuícola Pailones.....	16
<b><i>Figura 2</i></b>	Croquis del experimento.....	23
<b><i>Figura 3</i></b>	Promedio del peso corporal (g) de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de inclusión de probiótico.....	35
<b><i>Figura 4</i></b>	Promedio de la longitud total (cm) a través del tiempo de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo una dieta con cuatro niveles de inclusión de probiótico.....	37
<b><i>Figura 5</i></b>	Promedio de la ancho total (cm) a través del tiempo de <i>Oncorhynchus</i> bajo una dieta con cuatro niveles de inclusión de probiótico.....	37

## RESUMEN

El aprovechamiento del alimento es fundamental, se ve reflejado en los parámetros productivos y por ende en la rentabilidad y viabilidad de un proyecto acuícola. En la investigación se determinaron los efectos de cuatro niveles (0 g, 5 g, 10 g, y 15 g) de un producto probiótico a base de bacterias *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. en la alimentación de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en etapas de crecimiento y engorde. Se seleccionaron 720 peces de peso inicial de  $68 \pm 9$  g, se distribuyeron en 12 unidades experimentales. Se determinaron variables como peso corporal, longitud total, ancho total; variables productivas como índice de condición corporal, eficiencia alimenticia, factor de conversión alimenticia cada 10 días. Se realizó un análisis sanguíneo, además de un estudio microbiológico a nivel intestinal al finalizar el experimento. Los peces del tratamiento testigo obtuvieron resultados estadísticamente diferentes respecto a los demás peces en cuanto a la masa corporal ( $p < 0,001$ ), longitud total ( $p < 0,0004$ ) y ancho total ( $p < 0,0004$ ). En los animales del tratamiento testigo se encontraron bacterias patógenas de los géneros *Klebsiella* y *Pantoea* a nivel intestinal mientras que en los tratamientos sometidos al probiótico se encontraron bacterias como *Lactobacillus*. La inclusión de una dosis de 15 g de probiótico por kilogramo de alimento balanceado dio como resultado un aumento de peso corporal del 12,81 %, 3,07 % de longitud total y 19,77 % de ancho total, además de un beneficio-costos superior en \$0,38 respecto a los peces del tratamiento 0 g.

### Palabras clave:

- **TRUCHA ARCOÍRIS**
- **PROBIÓTICO**
- *Bacillus*
- *Paracoccus*

## ABSTRACT

The harnessing of food is fundamental, could be reflected in the productive parameters and therefore in the profitability and viability of acuicultural project. This thesis project evaluated the effect of inclusion of four levels (0 g, 5 g, 10 g, and 15 g) of a probiotic complex based on *Bacillus* spp. and *Paracoccus* spp. in the feeding in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in of growth and fattening stages, for this studio were sampled 720 animals with an average weight of  $68 \pm 9$  g which were distributed in 12 experimental units with 60 animals per experimental unit. Some metric variables were determined such as body weight, total length, total width and productive variables such as body condition index, nutritional efficiency, feeding conversion factor every 10 days during a 100-day from the study period, a blood test was performed at the end of this study, in addition the study to a microbiological at the intestinal level at the end of the trial. The animals' control group reported significant differences with the other treatments in body weight ( $p < 0.001$ ), total length ( $p < 0.0004$ ) and total width ( $p = 0.0004$ ). In the animals' treatment control group were found a pathogenic bacteria of the genre *Klebsiella* and *Pantoea* at the intestinal level meanwhile in the treatments subjected to a probiotic product was found a bacteria such as *Lactobacillus*. The inclusion of a dose of 15 g of probiotic per kilogram of balanced feeding reported an increase in body weight of 12.81 %, 3.07 % of total length and 19.77 % of total width, also a cost-benefit higher \$ 0.38 respect to the control treatment fish.

### Keywords:

- **TRUCHA ARCOÍRIS**
- **PROBIOTIC**
- *Bacillus*
- *Paracoccus*

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

#### 1.1 Antecedentes

La acuicultura es una actividad con cientos de años, tal vez más antigua que la propia agricultura; en la actualidad pretende ser una de las alternativas más eficaces para abastecer la alta demanda alimenticia, considerando que los productos obtenidos en esta actividad, son de alta calidad nutricional (FAO, 2017).

La acuicultura en el Ecuador es uno de los sectores con mayor crecimiento en esta década, generando un gran número de plazas de trabajo, actualmente se sabe que este sector genera un 7% del total de Producto Interno Bruto Agropecuario (Monteros & Salvador, 2015).

El cultivo de trucha arcoíris es la principal especie exótica de la sierra ecuatoriana que en el 2016 representó 39.3 millones de dólares, al lograr una producción record de 6051 Tm (FAO, 2017).

La trucha arcoíris es un tipo de salmónido de agua dulce introducido alrededor de 1928 en el Ecuador. En los últimos 50 años, la producción de truchas se centró como una alternativa importante llevándolas a su distribución a nivel mundial (Mora, 2009).

La trucha arcoíris es un pez poco resistente a condiciones inadecuadas de ambiente y manejo, por lo cual, controlar la calidad de agua, manejar altas densidades de carga, y mejorar parámetros productivos se han convertido en desafíos.

La biotecnología acuícola, ha generado avances que marcan una nueva etapa mediante el uso de microorganismos benéficos denominados probióticos, ya que al contrario que un organismo



patógeno este ayuda al huésped a tener mejores resultados productivos, sanitarios y ambientales, además crean barreras biológicas en los peces (López, 2011).

El uso de microorganismos en acuicultura tiene beneficios como la degradación de materia orgánica, de toxinas y sustancias tales como amoníaco, nitritos y sulfatos, mayor aprovechamiento del alimento y producción de sustancias protectoras.

Un probiótico se define como un microorganismo vivo que, administrado en cantidad idónea, crea un efecto favorable a nivel intestinal, mejorando la nutrición normal de la especie. La utilización de estos organismos mejorará la productividad, supervivencia, crecimiento, conversión alimenticia viéndose plasmado en un mayor retorno monetario.

En Ecuador, y específicamente en la acuicultura la utilización de probióticos es una práctica nueva, comparada con otro tipo de animales, ya que han sido muy poco estudiados los microorganismos con acción probiótica (Pineda, 2016).

## **1.2 Justificación**

El crecimiento poblacional y la falta de fuentes de alto valor nutricional, nos obliga a generar un producto de calidad, accesible a todos los sectores socioeconómicos, y que además genere fuentes de trabajo mejorando así la economía de los pobladores dedicados al cultivo de trucha arcoíris debido a que es un pez con alto contenido de proteína y ácidos grasos.

El aumento de la producción de trucha incrementa la necesidad de fuentes de materias primas de calidad para la elaboración de alimento balanceado, además de la intensificación de la producción lo cual genera condiciones estresantes en los peces, dando como resultado la aparición de enfermedades oportunistas y así pérdidas económicas para los productores, por estas razones el sector acuícola se ha visto en la necesidad de generar ingredientes que mejoren la

digestibilidad y el aprovechamiento del alimento balanceado aumentando así la vigorosidad y permita a los peces tolerar de mejor manera enfermedades. Actualmente existen productos comerciales que regulan la flora bacteriana intestinal, reduciendo de forma parcial o total el uso de antibióticos.

El incorporar probióticos en la alimentación de trucha arcoíris proporciona una flora intestinal que influye directamente en la eficiencia digestiva, teniendo crecimientos por encima de los rangos normales, aumentando la ganancia de peso y disminuyendo el tiempo del cultivo además genera una barrera natural contra las infecciones, enfermedades y patógenos.

La presente investigación busca analizar el producto FreshPlus, el cual es una mezcla sinérgica de bacterias benéficas a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* spp. que proporcionan un incremento de la ganancia de peso y supervivencia de los organismos, genera una barrera protectora contra microorganismos patógenos, ya que las colonias se multiplican rápidamente en el agua y a nivel intestinal, disminuyendo las infecciones bacterianas.

### **1.3 Planteamiento del problema**

#### **1.3.1 El Problema**

Los sistemas de producción de trucha arcoíris en los últimos años se han intensificado, lo cual resulta en la necesidad de grandes cantidades de agua, además el aumento de la población obliga a los productores a ser más eficientes brindando a la sociedad fuentes de alimento de alta calidad. La intensificación genera una baja productividad, la aparición de enfermedades que causan una alta mortalidad y un uso inadecuado de antibióticos. Como resultado de esto en la acuicultura se genera pérdidas económicas en los productores.

### 1.3.2 Efectos

- Disminución de la producción acuícola de pequeña y mediana escala, debido a la presencia de enfermedades bacterianas y fúngicas que causan un alto porcentaje de mortalidad.
- Elevados costos de producción debido a la falta de conocimiento técnico e implementación de tecnología poco eficiente.

### 1.3.3 Causas

- Disminución de la cantidad de fuentes hídricas de buena calidad, otorgadas para la producción acuícola debido al aumento de explotaciones pecuarias.
- Desconocimiento de alternativas tecnológicas y científicas que mejoran la productividad y además disminuyen el uso de antibióticos en producciones acuícolas.

## 1.4 Objetivos

### 1.4.1 Objetivo General

Determinar el efecto de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. en la productividad de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*.) en etapa de crecimiento y engorde, Hacienda El Prado, provincia de Pichincha, Ecuador.

### 1.4.2 Objetivos específicos

- Evaluar los parámetros productivos de trucha arcoíris, bajo la inclusión de cuatro niveles de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. en dietas balanceadas.
- Evaluar los parámetros hematológicos de trucha arcoíris bajo la inclusión de cuatro niveles de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. en dietas balanceadas.

- Determinar los perfiles bacterianos a nivel intestinal en el cultivo de trucha arcoíris bajo la inclusión de cuatro niveles de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. en dietas balanceadas.
- Determinar los indicadores financieros VAN, TIR, beneficio-costo, TRI y ROE para una producción de trucha arcoíris, basados en los resultados productivos de los tratamientos.

### **1.5 Hipótesis**

H0. “La inclusión de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp., en dietas balanceadas para el cultivo de trucha arcoíris en etapa de engorde, no mejora los parámetros productivos en relación a un sistema tradicional de cultivo”.

H1. “La inclusión de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp., en dietas balanceadas para el cultivo de trucha arcoíris en etapa de engorde, mejora los parámetros productivos en relación a un sistema tradicional de cultivo”.

## CAPÍTULO II

### MARCO REFERENCIAL

#### 2.1 La acuicultura a nivel mundial

El consumo per cápita de productos acuícolas registró un aumento de 9,9 kg en 1960 a casi 20 kg en 2015 esto en regiones en vías de desarrollo, siendo inferior al consumo en países desarrollados el cual llegó a 26,8 kg en el mismo período (FAO, 2016).

Según estimaciones, la producción acuícola mundial para el 2025 se sitúe en alrededor de 196 millones de toneladas, la mayor parte de este aumento será gracias a la producción de países en vías de desarrollo (FAO, 2016).

#### 2.2 La acuicultura en Ecuador

Ecuador cuenta con una ubicación privilegiada, debido a esto cuenta con pisos climáticos favorables para las actividades acuícolas. Alrededor del 95% de las actividades acuícolas en Ecuador corresponde al cultivo del camarón (*Litopenaeus* sp.), en la región de la Sierra ecuatoriana es donde tiene lugar la mayor producción de trucha arcoíris, mientras que los cultivos de Cachama, Paiche, Chame cuenta con avances en su producción en regiones cálidas como el oriente ecuatoriano (FAO, 2012).

Casi toda la producción acuícola nacional corresponde al cultivo de camarón el cual tiene como fin la exportación, mientras que los cultivos de otras especies como trucha, chame, paiche son manejados casi en su totalidad por asociaciones comunitarias (FAO, 2012).

## **2.3 Trucha arcoíris**

### **2.3.1 Origen y distribución**

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), es una especie íctica de la familia *Salmonidae*, la cual tuvo su origen en la costa occidental de América del Norte. Esta especie ha sido difundida ampliamente en todo el mundo debido a su fácil adaptación a un amplio rango de condiciones ambientales (Phillips, 2010). Actualmente es utilizada como un pez recreacional en pescas deportivas y en acuicultura de producción. En 1950, se desarrollaron dietas que suplían las necesidades nutricionales de esta especie, esto hizo que su producción entre en un proceso de expansión mundial (FAO, 2016)b.

Este gran avance en el cultivo de trucha arcoíris ha llevado al desarrollo de líneas locales, mucho más adaptadas mediante cruzamientos con el fin de mejorar la productividad (FAO, 2016)b.

Para la fecha, la trucha arcoíris se encuentra distribuida en todos los países del mundo, a excepción de la Antártida. Según la (FAO, 2016)b, los más grandes sistemas de producción de truchas se encuentran en Europa, Norte América, Chile, Japón y Australia, países que cuentan con un ambiente apto para su cultivo.

### **2.3.2 Morfología**

La franja rosada a violeta que atraviesa desde la región cefálica hasta la región caudal que varía con el hábitat, alimentación, estado fenológico y la condición sexual da el nombre de Trucha arcoíris a esta especie (Muñoz, 2008). El dorso posee una tonalidad verde oliva y el

abdomen es claro, muy útil al momento de generar un camuflaje debido a que es un pez depredador (FAO, 2016)b.

La trucha arcoíris posee un cuerpo en forma de torpedo, alargado, fusiforme, con simetría bilateral, ideal para la caza de peces pequeños debido a que presenta una naturaleza de depredador (De La Roche, 2012).

En cautiverio el peso óptimo va de 200g a 250g aunque para la reproducción de pueden llegar a pesos superiores a los 2kg con una vida de 3 años o más.

### **2.3.3 Alimentación**

La trucha arcoíris es un pez de hábito carnívoro, se alimenta de invertebrados (insectos, moluscos, crustáceos, renacuajos), huevos y peces pequeños. Sin embargo, el alimento más importante son macro invertebrados acuáticos como los gamarus, que contienen pigmentos carotenoides dando el color en la carne (FAO, 2016)b (Pokniak, 1997).

Bajo condiciones de cautiverio la trucha arcoíris es alimentada con formulaciones balanceadas obtenidas de fuentes de alto valor nutricional. Al ser un animal netamente carnívoro necesita altos niveles protéicos (45-50 %), esto hace que el costo de la alimentación de la trucha sea considerablemente alto (FAO, 2016)b.

### **2.3.4 Parámetros físico – químicos del agua para el cultivo de trucha arcoíris**

Los requerimientos ambientales para el cultivo de trucha arcoíris son sumamente altos a comparación de otras especies, esto debido a su naturaleza como depredador, carnívoro y por su habilidad de origen, la necesidad de altos niveles de oxígeno, bajos niveles de sólidos en el agua y una temperatura estable, hacen que el manejo de esta especie para la producción sea relativamente más difícil que otras especies (Tabla 1) (FAO, 2016)b.

**Tabla 1***Parámetros físico – químicos del agua para el cultivo de trucha arcoíris*

<b>Parámetro</b>	<b>Rango</b>	<b>Óptimo</b>
Temperatura de desove	6-12 °C	9 a 12 °C
Temperatura de cultivo	2-20 °C	12 a 16 °C
Oxígeno	5,5 – 9 mg/L	8,0 mg/L
Porcentaje de saturación de oxígeno	80-112 %	100 %
Potencial hidrógeno (pH)	6,5-9	7,5
Sólidos suspendidos	30-120 mg/L	<30 mg/L

Fuente: (FAO, 2016)b. °C: Grados centígrados; mg: Miligramos; L: litro; %: Porcentaje

### **2.3.5 Trucha arcoíris en el Ecuador**

En 1928 el gobierno introdujo esta especie exótica con el objetivo de poblar ríos, riachuelos y lagos de la sierra ecuatoriana (Mora, 2009). En 1992, en la estación piscícola “Arco Iris” ubicada en la Provincia del Azuay realizó un proyecto de reproducción artificial de trucha para abastecer de alevines a los productores (Mora, 2009). Para el año 1993 se construye el Centro de Investigaciones Acuícolas (CENIAC) el cual hasta la fecha es considerado el más grande centro de investigación sobre el cultivo de trucha arcoíris. Durante 1998, se produjeron 500 Tm, de trucha viva y sus derivados (Muñoz, 2008).

La mayor producción de trucha arcoíris a nivel nacional fue con 9279 Tm en el 2005, sin embargo en el 2010 la producción se vió disminuida llegando a una producción de 1930 Tm (MAGAP, 2016). La falta de conocimientos técnicos, capacitación, tecnología y mercado son los principales limitantes para este cultivo (MAGAP, 2016).



En la actualidad, alrededor del 90% de la producción nacional es utilizada en el consumo interno, mientras que el 10% restante es destinado a países vecinos como Colombia, Perú y Venezuela (Mora, 2009).

## **2.4 Probióticos en la acuicultura**

### **2.4.1 Definición de probiótico**

Los probióticos son suplementos usados en la formulación de alimentos, con el fin de mejorar la productividad animal, en particular actúan sobre la flora gastrointestinal, mejorando así la digestibilidad de las materias primas del alimento balanceado, generando un mayor aprovechamiento (Wallace & Newbold, 1992).

Los probióticos son microorganismos que al ser administrados actúan positivamente sobre el metabolismo y mejoran el estatus sanitario del huésped. Otra ventaja de utilizar probióticos es generar defensas contra invasiones de microorganismos patógenos, ya que generan compuestos antimicrobianos como super óxidos, ácido láctico, y otros metabolitos (Ruíz, 2007).

Para el campo de la acuicultura un probiótico es un suplemento formado por cultivos bacterianos que son adicionados a la dieta balanceada, con el propósito de mejorar los parámetros productivos y sanitarios del pez (Balcázar, 2002).

Los principales mecanismos de acción de los probióticos son:

- *Mejoramiento de las condiciones ambientales*; ya que estas bacterias tienen la capacidad de desdoblar materia orgánica o aprovechar sustancias nocivas como el amonio debido a que pueden generar asociaciones con algas formando bioflóculos.
- *Competencia con bacterias nocivas*; debido a que tienen mejor aprovechamiento de nutrientes, mejor capacidad de fijación en el intestino, además estimulan el sistema inmune del huésped.

- *Mejorar los procesos digestivos del hospedero*; mediante: aporte de enzimas digestivas (Verschuere, Heang, Criel, & Sogerloo, 2000).

#### **2.4.2 Situación actual de los probióticos**

Las infecciones causadas por bacterias patógenas son la principal causa de muerte en la acuicultura además de ser la principal limitante, muchas de estas enfermedades son asintomáticas y cuando presentan algún síntoma ya son fatales dando como resultado la muerte del pez (Rodríguez , Rodríguez , Monroy , & Mata , 2015).

Los géneros bacterianos como *Pseudomonas* sp. y *Aeromonas* sp., son los principales microorganismos causantes de altos porcentajes de mortalidad de trucha arcoíris en Ecuador (Rodríguez , Rodríguez , Monroy , & Mata , 2015).

La forma más común, pero no la más óptima para controlar este tipo de enfermedades es el uso de antibióticos, ácidos orgánicos y sales en altas concentraciones, lo cual causa alta resistencia de algunos microorganismos patógenos, además de un desequilibrio microbiológico a nivel gastrointestinal, viéndose afectada la productividad (Zizhong, 2009).

La biotecnología ha creado inmunoestimuladores, vacunas y una amplia gama de bacterias como *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Paracoccus* y *Pseudomonas* que tienen características probióticas con el fin de disminuir la mortalidad y mejorar la producción (Naranjo, Gutierrez, & RB, 2015).

**Tabla 2***Principales microorganismos probióticos usados en salmónidos*

<b>Cepa probiótico</b>	<b>Usado en</b>
<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Salmo salar</i> L.
G-Probiótico, <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
<i>Paracoccus</i> sp.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Vibrio fluvialis</i> ,	<i>Oncorhynchus mykiss</i>

Fuente: (Naranjo, Gutierrez, &amp; RB, 2015) (Mantilla, 2018).

### **2.4.3 Mecanismo de acción**

Algunos mecanismos de acción de los probióticos son la producción de metabolitos con acción antagonista contra las bacterias patógenas, la estimulación del sistema inmune, protección de la mucosa intestinal, el aumento de la digestibilidad del alimento debido a la liberación de enzimas en el tracto digestivo (García , López , & Boucourt, 2015).

#### **2.4.3.1 Producción de agentes inhibidores**

El metabolismo de estas bacterias benéficas produce como resultado final una cierta cantidad de agentes inhibidores, que en contacto con patógenos tiene una acción antagonista, evitando o reduciendo así una posible infección (García , López , & Boucourt, 2015).

#### **2.4.3.2 Competencia por espacio a nivel intestinal**

Las bacterias generan competencia por la colonización a nivel intestinal. Las bacterias se fijan al intestino gracias a factores como acciones electrostáticas, reconocimiento de proteínas de adhesión como adhesinas y liberación de ácidos (Lara , Olvera, & Gizmám, 2002).

### 2.4.3.3 Aumento de la respuesta inmune

Se ha comprobado que los probióticos tienen la capacidad de producción de anticuerpos, enzimas como superóxido dismutasa y péptidos antimicrobianos (García , López , & Boucourt, 2015).

## 2.4.4 FreshPlus

Es un producto comercial para la acuicultura de agua dulce el cual es una mezcla sinérgica de bacterias del género *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. con una concentración de  $1,50 \times 10^9$  UFC/g el cual actúa brindando una mayor digestibilidad al alimento balanceado y mejorando los parámetros sanitarios de los peces.

### 2.4.4.1 *Bacillus* sp.

#### 2.4.4.1.1 Generalidades

*Bacillus* son bacterias clasificadas como gram positivas, anaerobias estrictas o facultativas. Tienen forma de bastón los cuales forman cadenas largas, presentan flagelos por lo que son consideradas móviles, aunque se han encontrado especies inmóviles; pueden generar endósporas, lo cual les brinda una tolerancia a una temperatura elevada y a la acción de algunas sustancias químicas (Jawets, 1996). La mayoría de especies son positivas para la prueba de catalasa, además productoras de sustancias antimicrobianas (Bortolozo & Kira, 2002) (Guillot, 2000).

La liberación de ciertas enzimas como proteasas, amilasas y glicosidasas es una de las principales características de esta especie debido a que aumenta la digestibilidad y el aprovechamiento de los nutrientes de la dieta, estos nutrientes también pueden ser utilizados por otras bacterias benéficas.

Además, las endosporas estimulan el sistema inmune, aumentando la tolerancia del huésped ante patógenos ambientales (Anon, 1998).

#### **2.4.4.1.2 Interés industrial**

Una gran cantidad de especies de *Bacillus* tienen la capacidad de producir enzimas utilizadas en la industria, por ejemplo *Bacillus amyloliquefaciens* es capaz de producir la enzima barnasa la cual inhibe la actividad ribonucleasa en bacterias patógenas, además alfa amilasa que es una enzima utilizada en la hidrólisis del almidón, para el estudio del ADN se utiliza el BamH1 que es una enzima de restricción (Graumann, 2012).

*B. thuringiensis* se usa para control de plagas en cultivos ya que son bacterias entomopatógenas. *B. coagulans* aumenta el tiempo de vida de productos vegetales generando una película ácida sobre el producto (Alcaraz, 2010).

#### **2.4.4.2 *Paracoccus* sp.**

##### **2.4.4.2.1 Generalidades**

Son consideradas gram negativas, tienen un comportamiento aerobio, con forma cocoide y carentes de motilidad (Copeland, 2001).

##### **2.4.4.2.2 Importancia industrial**

*Paracoccus* es un género que cuenta con bacterias con la capacidades de degradación de sustancias tóxicas en aguas y suelos contaminados (Copeland, 2001). *P. denitrificans* es una bacteria capaz de transformar compuestos de azufre y nitrógeno como el tiosulfato, además puede oxidar amoníaco a nitrito (Uemoto & Saiki, 2000).

#### **2.4.4.3 Beneficios al utilizar el producto FreshPlus**

- Con un uso recomendado incrementa los parámetros productivos como ganancia de peso o tasa de conversión alimenticia.
- Mejora los parámetros sanitarios de los peces, disminuyendo la mortalidad.
- Se adapta a bajas concentraciones de oxígeno en el agua.
- Genera una capa protectora en el aparato digestivo y mejora la flora gastrointestinal.

#### **2.4.4.4 Recomendaciones de uso para FreshPlus**

Es un producto que puede ser administrado de forma directa al agua puesto que al contacto con el agua estas bacterias se activan, considerando una dosis de 200 g por hectárea a la semana. Al momento de administrar al alimento se debe considerar una dosis de 5 – 15g por kg de alimento.

#### **2.4.4.5 Almacenaje y manejo de FreshPlus**

Almacenar en un lugar fresco y seco, evitar el contacto directo con el sol u otro tipo de radiación, esto para evitar la disminución de la acción probiótica por parte del producto.

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA

#### 3.1 Ubicación de la investigación

##### 3.1.1 Ubicación Política

La investigación se realizó en el proyecto acuícola Pailones localizado en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, Parroquia San Fernando, Hacienda El Prado perteneciente a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA de la Universidad de las Fuerzas Armadas.



*Figura 1* Proyecto Acuícola Pailones.

##### 3.1.2 Ubicación geográfica

El Proyecto acuícola Pailones, está ubicado a 2940 metros sobre el nivel de mar con coordenadas geográficas 0°23'20" S 78°24'44" dentro del Campus Hacienda El Prado de La Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Datos:

- Temperatura: 13-14 °C.
- Precipitación anual: 1 200 milímetros de columna de agua.

## 3.2 Material experimental

### 3.2.1 Biológicos

- 720 truchas arcoíris con un peso promedio inicial de  $68 \pm 9$  g
- Producto comercial FreshPlus a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp.

### 3.2.2 Insumos de campo

- 2 baldes de 20 litros.
- 2 tinas plásticas de 100 litros
- 3 piscinas circulares de  $8 \text{ m}^3$  de volumen
- Alimento balanceado
- Ictiómetro
- Redes de pesca

### 3.2.3 Equipos

- Agitador calentador Corning
- Autoclave vertical All American
- Balanza digital Camry 2000g d=1g
- Cámara Airtech de flujo laminar
- Centrifuga marca ® Dynac
- Espectrofotómetro Thermo Spectronic
- Incubadora Memmert
- Microcentrifuga Thermo EC
- Microscopio Olympus
- Refrigerador Indurama



- Vortex Heidolph

### **3.2.4 Insumos laboratorio**

- Asas de platino
- Bisturí
- Cajas bi-petri de plástico
- Cajas Petri de vidrio
- Cajas tri-petri de plástico
- Fundas Ziploc
- Gradillas
- Jeringas de 3 mL
- Lámpara de alcohol
- Microcapilares
- Micropipeta (1000  $\mu$ L)
- Micropipeta (20  $\mu$ L)
- Micropipeta (200  $\mu$ L)
- Papel Parafilm
- Pinzas
- Plastilina Brá-seal
- Porta y cubre objetos
- Puntas para pipetas 0.1, 1 mL
- Tabla de micro-hematocrito
- Tijeras

- Tubos de ensayo de 10 mL
- Tubos de ensayo de 5mL
- Tubos Eppendorf de 0.5 mL y 1 mL

### **3.2.5 Reactivos**

- Agua destilada
- Alcohol cetona
- Caldo de cultivo Trypticase Soy Agar (TSA) de Merck
- Carbonato de calcio.
- Eugenol sodio de Life
- Gelatina sin sabor Royal
- Heparina sódica 500
- Kit albumin liquicolor
- Kit glucose liquicolor
- Kit total protein liquicolor
  
- Medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) de Difco
- Medio de cultivo agua peptonada de Difco
- Medio de cultivo citrato de Simmons de Difco
- Medio de cultivo MacConkey (MK) de Difco
- Medio de cultivo Man, Rogosa y Sharpe (MRS) de Difco
- Medio de cultivo Movilidad, Indol y Ornitina (MIO) de Difco
- Medio de cultivo Triple Sugar Iron (TSI) de Difco
- Medio de cultivo Trypticase Soy Agar (TSA) de Difco

- Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
- Reactivo de Drabkin
- Safranina
- Sal en grano
- Solución de Lugol
- Solución salina al 0.89%
- Violeta de Genciana

### **3.3 Métodos**

#### **3.3.1 Instalación del ensayo**

Se seleccionó tres piscinas circulares de 8 metros cúbicos de capacidad, las cuales se dividieron en cuatro partes iguales mediante una malla fina, con el fin de evitar un cruzamiento de animales y de alimento entre tratamientos. Se prepararon para la siembra mediante un lavado minucioso, seguido de una capa de carbonato de calcio con una dosis de 100 g/m<sup>2</sup>, esto con el fin de desinfectar o evitar la aparición de parásitos.

Los tratamientos y las repeticiones fueron dispuestos en cada una de las divisiones de las tres piscinas,

#### **3.3.2 Siembra de peces**

Con el objetivo de evaluar el rendimiento de trucha arcoíris en etapa de crecimiento y engorde, se utilizaron peces con peso promedio inicial de  $68 \pm 9$  g, que es un rango aceptable en el cultivo. En el estudio se manejó una densidad de 30 peces por metro cúbico para un total de 720 animales.

### 3.3.3 Alimentación de peces

El cálculo de la dosis de alimentación se realizó basada en la Tabla 3, de acuerdo al peso promedio del pez, además de la inclusión de 4 dosificaciones de un complejo probiótico a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. ( $1.50 \times 10^9$  UFC/g) con una frecuencia del suministro de las raciones de tres veces al día.

**Tabla 3**

*Tabla de alimentación para trucha arcoíris contemplando una temperatura del agua de 12°C*

<b>g/pez</b>	<b>Tasa alimenticia (%)</b>	<b>Tamaño ( mm)</b>	<b>Proteína (%)</b>
15-30	2.4	3/32	45
30-50	2	1/8	45
50-150	1.8	5/35	3
150-227	1.5	5/32	42
227-454	1.3	5/32	42

Fuente: Ortiz (2006). g: gramos; %:porcentaje; mm: milímetros.

Para asegurar la correcta distribución del producto probiótico en el alimento balanceado se realizó la siguiente metodología, esto para la preparación de un kilogramo:

- En un recipiente se aforó 100 mL de agua destilada la cual se calentó hasta los 60°C.
- Se disolvieron completamente 2 g de gelatina sin sabor evitando la formación de grumos.
- Se llevó la solución a temperatura ambiente (18 a 20°C).
- Se pesó 0 g, 5 g, 10 g y 15 g del producto FreshPlus.
- Se roció la solución de gelatina en el alimento balanceado.
- Se dejó evaporar la mayor cantidad de humedad, esto para evitar la activación de las bacterias que iban a ser agregadas seguidamente.
- Se agregó el probiótico al alimento con la solución de gelatina mezclando lo mejor posible para distribuir homogéneamente el probiótico..
- Se conservó en fundas selladas en refrigeración a una temperatura de 4 a 6 °C.

Los cálculos para la preparación del alimento se realizaron cada 10 días utilizando los datos morfométricos.

### 3.4 Diseño experimental

#### 3.4.1 Factores

Sistema de Alimentación (T)

Alimento + 5 g del producto bacteriano *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. ( $1,5 \times 10^9$  UFC/g)

Alimento + 10 g del producto bacteriano *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. ( $1,5 \times 10^9$  UFC/g)

Alimento + 15 g del producto bacteriano *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. ( $1,5 \times 10^9$  UFC/g)

Alimento + 0 g del producto bacteriano *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. ( $1,5 \times 10^9$  UFC/g)

#### 3.4.2 Tratamientos

El sistema de tratamientos utilizados en la investigación se observan en la Tabla 4.

**Tabla 4**

*Descripción de tratamientos*

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>
T1	Alimento + 5 g del producto bacteriano <i>Bacillus</i> sp. y <i>Paracoccus</i> sp. ( $1,5 \times 10^9$ UFC/g)
T2	Alimento + 10 g del producto bacteriano <i>Bacillus</i> sp. y <i>Paracoccus</i> sp. ( $1,5 \times 10^9$ UFC/g)
T3	Alimento + 15 g del producto bacteriano <i>Bacillus</i> sp. y <i>Paracoccus</i> sp. ( $1,5 \times 10^9$ UFC/g)
T4 (control)	Alimento + 0 g del producto bacteriano <i>Bacillus</i> sp. y <i>Paracoccus</i> sp. ( $1,5 \times 10^9$ UFC/g)

UFC: Unidades formadoras de colonia.

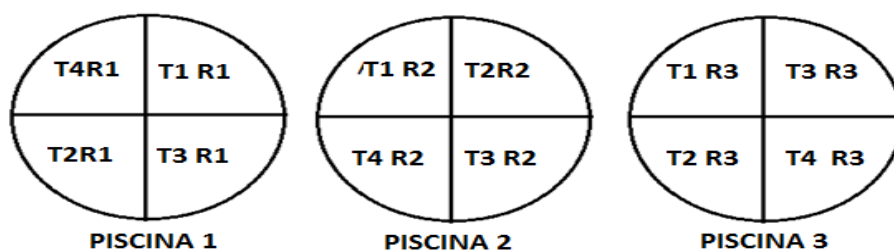
#### 3.4.3 Modelo del diseño experimental

Para el estudio de selección se utilizó un diseño en bloques completos al azar (DBCA) unifactorial con 3 repeticiones y un testigo.

### 3.4.4 Unidades experimentales (UE)

Se requirieron 12 UE, las cuales fueron divisiones de piscinas con un volumen de 2 metros cúbicos de capacidad. En cada UE se colocaron 60 peces de un peso promedio inicial de  $68 \pm 9$  g, dando un número final de 720 peces en la investigación.

### 3.4.5 Distribución del experimento



*Figura 2* Croquis del experimento

## 3.5 Variables a medir

### 3.5.1 Variables métricas

#### 3.5.1.1 Masa corporal (peso en gramos)

Este valor fue tomado cada 10 días con la ayuda de una balanza electrónica de  $2000g \pm 0,1g$

#### 3.5.1.2 Talla (cm)

Utilizando un ictiómetro se determinaron la longitud total y ancho total cada 10 días.

### 3.5.2 Parámetros Productivos

#### 3.5.2.1 Ganancia de peso (g/d)

Utilizando los datos de masa corporal se determinó el aumento de peso diario con la fórmula:

$$GP = \frac{PF - PI}{T}$$

PF: Peso Final

PI: Peso Inicial

T: Tiempo

### 3.5.2.2 Tasa de crecimiento específico (TCE)

Se determinó el crecimiento de los peces en función de la diferencia de pesos entre las tomas de datos de la masa corporal:

$$TCE: \frac{\ln Pf - \ln Pi}{tF - ti} * 100$$

Pf: Peso final

Pi: Peso inicial

tf: Tiempo final

ti: Tiempo inicial

### 3.5.2.3 Factor de conversión alimenticia (FCA)

Este valor nos indica el consumo de alimento balanceado que es necesario para la ganancia de 1 g de peso:

$$FCA = \frac{AB}{GP}$$

AB: Consumo de alimento

GP: Ganancia de peso

### 3.5.2.4 Eficiencia alimenticia (EA)

Nos muestra indirectamente la capacidad del pez para aprovechar el alimento y asimilarlo en su cuerpo:

$$EF = \frac{GP}{AB} X 100$$

AB: Alimento balanceado

GP: Ganancia de peso

### 3.5.2.5 Índice de condición corporal (ICC)

Para conocer el estatus nutricional y morfológico de los peces, utilizando la relación volumétrica:

$$ICC = \frac{PC}{(LT)^3} * 100$$

PC: Peso Corporal

LT: Longitud Total

### **3.5.3 Variables hematológicas**

Los análisis de las variables hematológicas se realizaron a 3 peces de cada UE, con un total de 9 muestras por tratamiento, dando un total de 36 animales analizados en el experimento.

#### **3.5.3.1 Toma de muestra de sangre**

Se extrajeron de 1 a 1.5mL de sangre por pez de la arteria caudal, utilizando una jeringa de 3mL, las cuales fueron tratadas anteriormente con heparina sódica 500 UI/mL para evitar la coagulación de la muestra. La punción se realizó en un ángulo de 30° a 45°, tomando como referencia la intersección entre la línea media y el poro genital del pez. Se introdujo el aguja hasta llegar a la zona de la columna vertebral, por donde pasa la arteria caudal, mediante la generación de vacío en la jeringa se pudo colectar la sangre requerida, las 36 muestras de sangre fueron colocadas en tubos eppendorf de 1 mL rotulados, almacenados bajo refrigeración y transportadas del lugar de investigación hacia el laboratorio de Acuicultura de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA-ESPE.

#### **3.5.3.2 Análisis de Hematocrito**

El hematocrito mide el porcentaje de glóbulos rojos que contiene una muestra de sangre, esto permite detectar de manera indirecta la presencia de enfermedades como anemia y otros trastornos sanguíneos. Para el estudio se utilizaron 0,5 mL de sangre con anticoagulante, se realizaron 2 mediciones por muestra de sangre utilizando micro capilares sin anticoagulante debido a que las muestras ya contaban con heparina sódica. Los capilares fueron sellados con plastilina Brá-seal luego colocados en tubos de ensayo con una base de algodón y debidamente



rotulados. Los tubos fueron centrifugados durante 10 minutos a 3500rpm utilizando una centrífuga ® Dynac. .

### 3.5.3.3 Análisis de Hemoglobina (Hb)

La principal proteína que forma parte de los glóbulos rojos y encargada de transportar el oxígeno a todas las células del cuerpo. Para la obtención de la hemoglobina se utilizó el reactivo de Drabkin el cual destruye las paredes de los hematíes liberando la hemoglobina. Para cada muestra analizada se colocó 2,5 mL del reactivo utilizando una micropipeta de 1000 µL añadiendo a este 10 µL de sangre con anticoagulante utilizando una micropipeta de 20 µL. Además se colocó en un tubo de ensayo simplemente la cantidad mencionada de reactivo, el cual fue utilizado como blanco en la medición, se incubó 10 min a temperatura ambiente (18 a 20°C).

Los resultados fueron obtenidos mediante la lectura en un espectrofotómetro Thermo Spectronic a 546nm previamente calibrado utilizando el blanco (reactivo), seguido de la lectura de cada una de las muestras que fueron colocadas en celdas específicas para este espectrofotómetro. Para el cálculo final del contenido de hemoglobina en la muestra se aplicó la siguiente fórmula, dando el resultado final en g/dL de sangre.

$$\text{g Hb /dL} = \text{Abs muestra} \times 37$$

Hb: Hemoglobina

dL: Decilitro

Abs: Absorbancia

### 3.5.3.4 Análisis de Glucosa (Gluc)

El análisis de glucosa mide la concentración de azúcar en la sangre. La obtención de la glucosa de las muestras se realizó mediante la utilización del kit Human glucose de la empresa Liquicolor. Para el análisis de las 36 muestras se utilizaron 38 tubos correctamente rotulados en los cuales se colocaron 1 mL del reactivo, en uno tubo se colocó 10 µL del estándar y en los 36 restantes 10 µL de plasma sanguíneo, obtenido anteriormente mediante la centrifugación de 1 mL de sangre a 5600 rpm durante 10 minutos, el tubo restante se utilizó como blanco para calibrar el espectrofotómetro. Las soluciones fueron incubadas a temperatura ambiente por 5 minutos. Las muestras fueron leídas utilizando un espectrofotómetro Thermo Spectronic a 546 nm, encerado con el blanco y calibrado con el estándar.

Se aplicó la siguiente fórmula para obtener el contenido de glucosa en sangre en mg/dL.

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = 100 * \frac{\text{ABS muestra}}{\text{ABS STD}}$$

mg: Miligramo

dL: Decilitro

ABS: Absorbancia

STD: Estandar

### 3.5.3.5 Análisis de Proteína total (PT)

El análisis de proteína total mide el contenido total de proteína que es el resultado de la suma de albumina y globulina. Se utilizó el kit Human total protein de Liquicolor, para el análisis de las 36 muestras, se utilizaron 38 tubos correctamente etiquetados en los cuales se colocaron 1 mL de reactivo (Método de Biuret), uno de ellos sirvió como blanco, utilizando una micropipeta se adicionó 20 µL de (STD) en un tubo, en los 36 restantes se adicionaron 20 µL del plasma

sanguíneo. La muestra incubada por 15 minutos se mantuvo a una temperatura de 37°C. Se obtuvieron las lecturas utilizando un espectrofotómetro Thermo Spectronic a 546 nm, encerado con el blanco y calibrado con el estándar.

Para el cálculo del contenido de proteína total en sangre en g/L se utilizó la siguiente formula.

$$PT \text{ (g/L)} = 80 * \frac{ABS \text{ muestra}}{ABS \text{ STD}}$$

PT: Proteína total

g: Gramo

dL: Decilitro

ABS: Absorbancia

STD: Estandar

### 3.5.3.6 Albúmina (Alb)

La albúmina es un indicador directo de problemas hepáticos o renales, además es un indicador de deficiencias nutricionales y la respuesta a posibles ascitis. Se utilizó el kit Human TOTAL albumin de Liquicolor. Para el análisis de las 36 muestras se utilizaron 38 tubos correctamente etiquetados en los cuales se colocaron 1 mL del reactivo en 38 tubos de ensayo debidamente rotulados, uno de ellos sirvió como blanco, utilizando una micropipeta se adicionó 10 µL del estándar STD en un tubo, en los 36 restantes se colocaron 10 µL del plasma sanguíneo. Las soluciones incubadas por 5 minutos a temperatura ambiente. Se obtuvieron las lecturas de muestras utilizando un espectrofotómetro Thermo Spectronic a 546 nm, encerado con el blanco y calibrado con el estándar.

Para obtener el contenido de albúmina total en sangre en g/L se aplicó la siguiente formula.:

$$\text{Alb (g/L)} = 40 * \frac{\text{ABS muestra}}{\text{ABS STD}}$$

Alb: Albúmina

g: Gramo

L: Litro

ABS: Absorbancia

STD: Estandar

### 3.5.3.7 Globulina (Glob)

La concentración globulinas en sangre es sinónimo del estatus inmunológico del animal debido a que constituye una parte importante del sistema inmune del pez. El cálculo de la globulina es el más fácil de realizar puesto que resulta de la resta entre la proteína total y la albúmina.

Se aplicó la siguiente fórmula para obtener el contenido de globulina total en sangre en g/L.

$$\text{Glob (g/L)} = \text{PT} - \text{Alb}$$

Glob: Globulina

PT: Proteína total

Alb: Albúmina

g: Gramo

L: Litro

### 3.5.4 Análisis microbiológicos del intestino

El análisis microbiológico del intestino se realizó a los 100 días de haberse suministrado la dieta con los probióticos.

#### **3.5.4.1 Toma de muestras**

Se trasladaron 12 peces vivos, uno por cada unidad experimental (tres por cada tratamiento) del Proyecto Acuícola Pailones hacia el laboratorio de Acuicultura de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA. Los animales fueron anestesiados mediante el uso de eugenol sodio, luego sacrificados y desangrados para evitar posibles cambios en los resultados y seguidamente se extrajo el intestino de manera aséptica, en la cámara de flujo laminar, el intestino se colocó en cajas Petri esterilizadas.

#### **3.5.4.2 Siembra de microorganismos**

Se seleccionaron los ciegos pilóricos debido a que son la porción del intestino con mayor actividad bacteriana, de los cuales se colectó su contenido y se adicionaron porciones representativas. Esto se colocó y homogenizó en 5 mL de solución salina estéril al 0,85% utilizando un Vortex durante 5 minutos. De este homogeneizado se tomaron 20  $\mu$ L de alícuotas las cuales fueron colocadas en tubos con caldo TSA, dichos tubos fueron incubados durante 24 horas a 30°C.

De los tubos con caldo TSA se tomaron 20  $\mu$ L de alícuotas, los cuales fueron inoculados en los siguientes medios específicos:

- Medio de cultivo MK (MacConkey)
- Medio de cultivo MRS (Man, Rogosa y Sharpe)
- Medio de cultivo PDA (Agar Papa Dextrosa)
- Medio de cultivo TSA (Trypticase Soy Agar)

Se incubaron a 30°C durante 48 horas. Para el medio de cultivo MRS se improvisaron cámaras anaerobias con fundas Ziplic y CO<sub>2</sub> con el mismo tiempo y temperatura de incubación.

### 3.5.4.3 Identificación bacteriana

Se identificaron y se seleccionaron colonias que tuvieron un crecimiento representativo en los diferentes medios específicos, después se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas. Se elaboró un jugo de baterías bioquímicas para cada muestra realizada.

**Tabla 5**  
*Pruebas bioquímicas para identificación bacteriana*

<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>
Agua peptona	Reacción a indol
Catalasa	Presencia de catalasa
Citrato	Utilización de citrato
MIO	Motilidad Ornitina descarboxilasa Reacción a indol
Oxidasa	Presencia de oxidasa
Triple azúcar hierro ( TSI)	Producción de ácido a partir de glucosa Producción de gas a partir de glucosa Producción de ácido a partir de lactosa Producción de ácido a partir de lactosa y /o sacarosa Producción de ácido de sulfúrico Producción de gas
Tinción	Gram positiva o negativa

Fuente: Álvarez, Boquet y Fez (1990).

Mediante la utilización del software gratuito ABIS online ([http://www.tgw1916.net/bacteria\\_logare\\_desktop.html](http://www.tgw1916.net/bacteria_logare_desktop.html)) se pudieron identificar los principales géneros bacterianos presentes en las muestras intestinales.

### 3.6 Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos en la presente investigación fue realizado en Infostat, utilizando un diseño en bloques completos al azar, el cual constaba doce unidades experimentales distribuidas en tres tratamientos y un testigo con tres repeticiones (Tabla 6).

**Tabla 6**

*ANOVA para un DBCA con 4 tratamientos y 3 repeticiones*

Fuentes de variación	Grados de libertad
Niveles de inclusión de probiótico	3
Bloques	2
Error experimental	6
Total	11

Mediante el siguiente modelo matemático para un DBCA se realizó el análisis estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + B_j + T_k + (PT)_{ik} + e_{ijk}$$

$y_{ij}$  : Desempeño productivo

$\mu$ : media general

$P_i$  : Efecto del i-ésimo nivel de dosificación de un producto bacteriano *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. ( $1.50 \times 10^9$  UFC/g).

$B_j$ : Efecto del j-ésimo bloque.

$T_k$ : Efecto del k-ésimo tiempo en días de toma de datos.

$(PT)_{ik}$  = Efecto de la interacción Nivel de dosificación de un producto bacteriano  $\times$  Tiempo

$e_{ijk}$  = Error experimental para el tiempo

### 3.7 Análisis de indicadores financieros

El análisis económico se realizó en base a los trabajos de análisis financieros en acuicultura de García (1995), las variables calculadas fueron: costos de inversión, gastos operativos y flujo de caja con proyección a 5 años. Para el cálculo de indicadores financieros se utilizó el software para evaluación de proyectos de inversión (Guerrero, 2014) (Mantilla, 2018).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Variables métricas

##### 4.1.1 Masa corporal

El análisis estadístico para masa corporal (peso) obtuvo un efecto significativo para la interacción tratamiento\*tiempo ( $F_{3, 6} = 81,41$ ) los animales sometidos a una inclusión de probiótico en el alimento balanceado presentaron mayor peso promedio a los 100 días del experimento respecto a los animales testigos (Tabla 7, Tabla 8, Figura 3).

**Tabla 7**

*Medias  $\pm$  desviación estándar del peso corporal de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta con cuatro niveles de inclusión de probiótico durante el experimento*

Inclusión de probiótico	Tiempo (días)	Peso promedio (g)
5g	10	74,89 $\pm$ 2,23
	20	82,42 $\pm$ 7,03
	30	99,78 $\pm$ 10,67
	40	111,78 $\pm$ 9,38
	50	136,69 $\pm$ 14,41
	60	152,82 $\pm$ 14,62
	70	168,82 $\pm$ 14,62
	80	188 $\pm$ 18,43
	90	205,02 $\pm$ 18,98
	100	226,02 $\pm$ 18,98
10g	10	75,53 $\pm$ 1,32
	20	88,76 $\pm$ 6,31
	30	102,42 $\pm$ 9,54
	40	116,33 $\pm$ 10,77
	50	147,6 $\pm$ 13,32
	60	150,6 $\pm$ 11,31
	70	166,6 $\pm$ 11,31
	80	179 $\pm$ 14,09
	90	208,16 $\pm$ 22,33
	100	229,16 $\pm$ 22,33
	10	75,4 $\pm$ 3,44

CONTINÚA





15g	20	82,67 ±6,96
	30	99,42 ±8
	40	114,78 ±11,69
	50	145,89 ±8,46
	60	158,64 ±11
	70	174,64 ±11
	80	189,49 ±18,76
	90	213,84 ±20,5
	100	234,84 ±20,95
	0g	10
20		76,51 ±7,05
30		97 ±9,3
40		102,82 ±7,77
50		120,64 ±9,73
60		142,09 ±10,09
70		158,09 ±10,09
80		171,82 ±11,88
90		187,18 ±18,05
100		208,18 ±18,05

g: gramos.

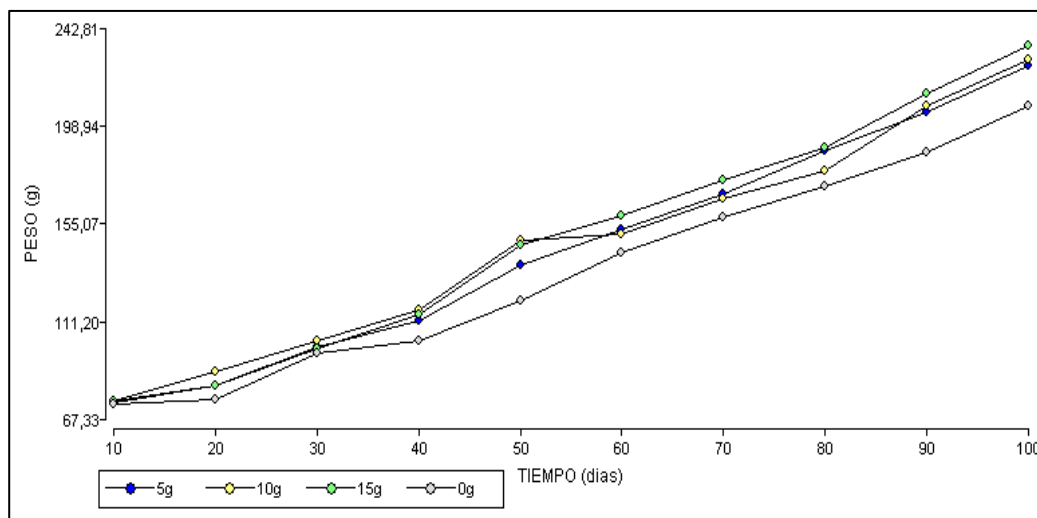
### Tabla 8

*Medias ± desviación estándar del peso corporal de *Oncorhynchus mykiss**

INCLUSIÓN DE PROBIÓTICO (g)	PESO CORPORAL (g)
0	208,18 ± 18,05b
5	226,02 ± 18,98a
10	229,16 ± 22,33a
15	234,84 ± 20,95a

Columnas con letra semejante son estadísticamente iguales (LSD Fisher; p<0,05). (p<0,001).

g: gramos.



**Figura 3** Promedio del peso corporal (g) de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta

La adición de probióticos a base de bacterias de los géneros *Bacillus* y *Paracoccus* en el alimento balanceado de *Oncorhynchus mykiss* tuvo un incremento de peso total de 12,81 % respecto a los peces sometidos al tratamiento testigo durante los 100 días de ensayo. Según (Mantilla, 2018) mediante la utilización de un complejo probiótico a base de bacterias de los géneros *Bacillus* y *Paracoccus* en la alimentación de tilapia (*Oreochromis* sp.) se logró un incremento en 17,91 % de peso corporal.

#### 4.1.2 Longitud total y ancho total

El análisis de varianza para longitud dio como resultado un efecto estadísticamente significativo para la interacción tratamiento  $\times$  tiempo, ( $F_{3,6} = 5,01$ ), mientras que para la variable ancho total no mostró un efecto significativo ( $F_{3,6} = 0,63$ ;  $p = 0,59$ ). Los animales sometidos a una inclusión de probiótico en el alimento balanceado presentaron mayor longitud total e igual ancho total al final del experimento respecto a los animales con el tratamiento testigo (Tabla 9, Tabla 10, Figura 4, Figura 5).

**Tabla 9**

*Media  $\pm$  error estándar de la longitud total y ancho total de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento*

<b>Inclusión de probiótico</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Longitud total (cm)</b>	<b>Ancho total (cm)</b>
5g	10	17,84 $\pm$ 0,85	4,22 $\pm$ 0,02
	20	18,7 $\pm$ 1,05	4,38 $\pm$ 0,04
	30	20,2 $\pm$ 1,11	4,5 $\pm$ 0,05
	40	21,41 $\pm$ 1,01	4,67 $\pm$ 0,05
	50	22,28 $\pm$ 1,14	5,05 $\pm$ 0,08
	60	23,04 $\pm$ 0,88	5,36 $\pm$ 0,09
	70	23,72 $\pm$ 0,86	5,67 $\pm$ 0,09
	80	25,37 $\pm$ 0,98	5,98 $\pm$ 0,12
	90	25,96 $\pm$ 0,73	6,29 $\pm$ 0,15
	100	26,45 $\pm$ 0,57	6,6 $\pm$ 0,15
10g	10	17,82 $\pm$ 0,67	4,25 $\pm$ 0,02
	20	19,24 $\pm$ 0,83	4,4 $\pm$ 0,02
	30	20,22 $\pm$ 1,03	4,55 $\pm$ 0,04
	40	21,49 $\pm$ 1,09	4,71 $\pm$ 0,05
	50	23,22 $\pm$ 1,03	5,2 $\pm$ 0,07
	60	23,26 $\pm$ 0,74	5,55 $\pm$ 0,11
	70	23,87 $\pm$ 0,65	5,9 $\pm$ 0,12
	80	24,95 $\pm$ 0,88	6,25 $\pm$ 0,09
	90	25,93 $\pm$ 0,77	6,6 $\pm$ 0,11
	100	26,66 $\pm$ 0,62	6,95 $\pm$ 0,13
15g	10	17,91 $\pm$ 0,91	4,3 $\pm$ 0,02
	20	18,82 $\pm$ 0,87	4,43 $\pm$ 0,03
	30	20,02 $\pm$ 0,89	4,55 $\pm$ 0,04
	40	21,74 $\pm$ 1,16	4,66 $\pm$ 0,07
	50	23,08 $\pm$ 0,87	5,26 $\pm$ 0,11
	60	23,58 $\pm$ 0,74	5,71 $\pm$ 0,09
	70	24,97 $\pm$ 0,87	6,16 $\pm$ 0,12
	80	25,45 $\pm$ 0,89	6,61 $\pm$ 0,14
	90	26,12 $\pm$ 0,66	7,06 $\pm$ 0,11
	100	26,88 $\pm$ 0,61	7,51 $\pm$ 0,12
0g	10	17,79 $\pm$ 0,67	4,15 $\pm$ 0,02
	20	18,24 $\pm$ 1,06	4,25 $\pm$ 0,02
	30	19,97 $\pm$ 1,08	4,35 $\pm$ 0,04
	40	20,84 $\pm$ 1,09	4,48 $\pm$ 0,07
	50	21,92 $\pm$ 0,89	4,87 $\pm$ 0,11
	60	22,57 $\pm$ 0,64	5,15 $\pm$ 0,08
	70	23,24 $\pm$ 0,65	5,43 $\pm$ 0,12
	80	24,65 $\pm$ 0,89	5,71 $\pm$ 0,09
	90	25,19 $\pm$ 1,87	5,99 $\pm$ 0,12
	100	26,08 $\pm$ 0,75	6,27 $\pm$ 0,12

cm: centímetros

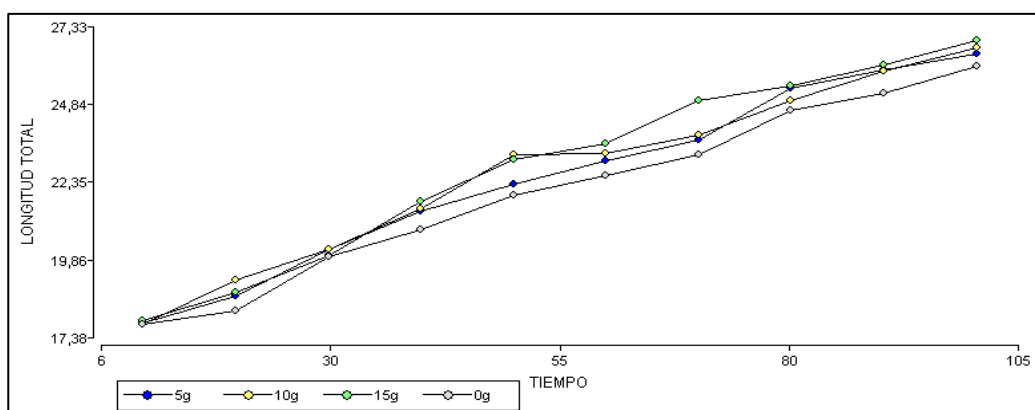
**Tabla 10**

Promedio  $\pm$  error estándar del largo total y ancho total de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico

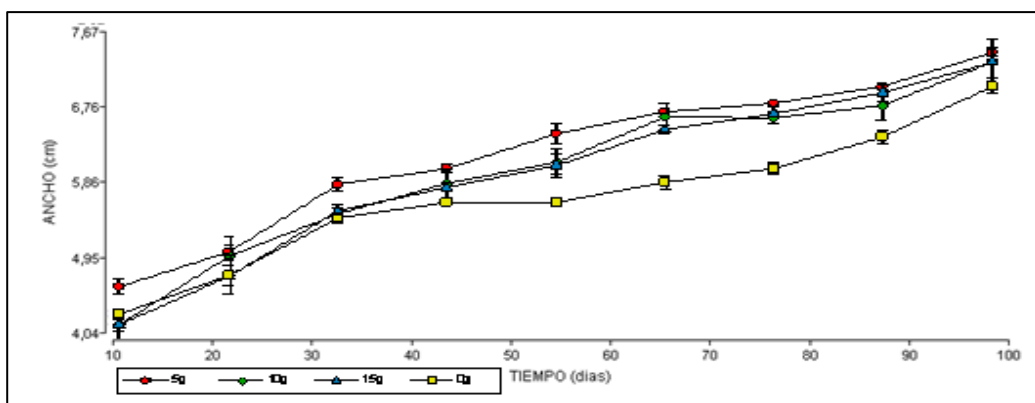
Inclusión de probiótico	Longitud total (cm)	Ancho total (cm)
0g	22,05 $\pm$ 0,14 b	5,07 $\pm$ 0,28 a
5g	22,5 $\pm$ 0,14 a	5,27 $\pm$ 0,3 a
10g	22,67 $\pm$ 0,14 a	5,44 $\pm$ 0,4 a
15g	22,86 $\pm$ 0,14 a	5,83 $\pm$ 0,3 a

Columnas con letra semejante son estadísticamente iguales (LSD Fisher;  $p < 0,05$ ). ( $p < 0,0004$ ).

cm: centímetros



**Figura 4** Promedio de la longitud total (cm) a través del tiempo de *Oncorhynchus mykiss*



**Figura 5** Promedio de la ancho total (cm) a través del tiempo de *Oncorhynchus mykiss*

La adición de probióticos a base de bacterias de los géneros *Bacillus* y *Paracoccus* en el alimento balanceado de *Oncorhynchus mykiss* tuvo un incremento de 3,07 % de longitud total y 19,77 % de ancho total respecto a los peces sometidos al tratamiento testigo durante los 100 días

de ensayo. Según (Mantilla, 2018) mediante la utilización de un complejo probiótico a base de bacterias de los géneros *Bacillus* y *Paracoccus* en la alimentación de tilapia (*Oreochromis* sp.) se logró un aumento del 9,32 % para longitud total y 5,83 % para ancho total respecto a los peces tratados con 0 g de producto probiótico.

## 4.2 Parámetros productivos

### 4.2.1 Ganancia de peso (GP) e índice de condición corporal (ICC)

El análisis estadístico para ganancia de peso dio como resultado un efecto estadísticamente significativo para la interacción tratamiento  $\times$  tiempo ( $F_{3,6} = 8,03$ ) de igual forma para la variable índice de condición corporal ( $F_{3,6} = 7.3$ ). Los animales sometidos a una inclusión de probiótico en el alimento balanceado presentaron mayor ganancia de peso e índice de condición al final del experimento respecto a los animales con el tratamiento testigo (Tabla 11). Los animales con 15g de inclusión de probiótico en la dieta mostraron mejor ganancia de peso e índice de condición corporal durante el experimento (Tabla 12).

**Tabla 11**

*Promedio  $\pm$  desviación estándar de índice de condición corporal de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento*

Inclusión de probiótico	Tiempo (días)	Ganancia de peso (g/día)	ICC
5g	10	0,7	1,44 $\pm$ 0.13
	20	0,753	1,36 $\pm$ 0.06
	30	1,736	1,30 $\pm$ 0.08
	40	1,2	1,22 $\pm$ 0.1
	50	2,491	1,33 $\pm$ 0.22
	60	1,613	1,33 $\pm$ 0.07
	70	1,6	1,34 $\pm$ 0.08
	80	1,918	1,22 $\pm$ 0.05
	90	1,702	1,24 $\pm$ 0.07
	100	2,1	1,29 $\pm$ 0.06
	10	0,8	1,45 $\pm$ 0.09
	20	1,323	1,34 $\pm$ 0.06
	30	1,366	1,33 $\pm$ 0.1
	40	1,391	1,25 $\pm$ 0.08

CONTINÚA  


10g	50	3,127	1,26 ± 0.13
	60	0,3	1,27 ± 0.04
	70	1,6	1,30 ± 0.08
	80	1,24	1,22 ± 0.05
	90	2,916	1,26 ± 0.08
	100	2,1	1,27 ± 0.07
15g	10	0,8	1,43 ± 0.12
	20	0,727	1,34 ± 0.05
	30	1,675	1,33 ± 0.05
	40	1,536	1,19 ± 0.09
	50	3,111	1,27 ± 0.13
	60	1,275	1,29 ± 0.05
	70	1,6	1,19 ± 0.05
	80	1,485	1,21 ± 0.06
	90	2,435	1,27 ± 0.07
	100	2,1	1,27 ± 0.06
0g	10	0,7	1,32 ± 0.11
	20	0,22	1,25 ± 0.08
	30	2,049	1,21 ± 0.07
	40	0,582	1,13 ± 0.09
	50	1,782	1,14 ± 0.11
	60	2,145	1,23 ± 0.06
	70	1,6	1,26 ± 0.06
	80	1,373	1,14 ± 0.04
	90	1,536	1,24 ± 0.07
	100	2,1	1,17 ± 0.05

ICC: índice de condición corporal; g: gramos

**Tabla 12**

*Promedio ± desviación estándar de índice de condición corporal de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento*

Inclusión de probiótico	GP (g/día)	ICC
0g	1,41 ± 0,3 b	1,3 ± 0,01ab
5g	1,58 ± 0,23 ab	1,23 ± 0,01b
10g	1,62 ± 0,2 a	1,27 ± 0,01b
15g	1,67 ± 0,23 a	1,4 ± 0,01a

Columnas con letra semejante son estadísticamente iguales (LSD Fisher;  $p < 0,05$ ). ( $p < 0,0003$ ).

Los complejos probióticos mejoran los parámetros productivos debido a que producen metabolitos o enzimas como lipasas, amilasas, proteasas, glicosidasas que aumentan la

digestibilidad de los alimentos, ya que se aceleran los procesos de glucólisis, proteólisis y lipólisis, así mismo producen ácidos grasos de cadena corta y lípidos que estimulan el incremento del metabolismo de organismo además de intervenir en el anabolismo y catabolismo de nutrientes (Brown, y otros, 1996) (Ringo, Bendisken, Gausen, Sundsfjord, & Olsen, 1998).

#### 4.2.2 Tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA) y eficiencia alimenticia (EA)

El análisis estadístico dió como resultado un efecto estadísticamente significativo para la interacción tratamiento×tiempo para las variables tasa de crecimiento específico ( $F_{3,6} = 8,03$ ;  $p < 0,0001$ ), factor de conversión alimenticia ( $F_{3,6} = 9,67$ ;  $p < 0,0001$ ) y eficiencia alimenticia ( $F_{3,6} = 3,03$ ;  $p < 0,00015$ ). Los animales sometidos a una dieta suplementada con probiótico tuvieron una mejor tasa de crecimiento específico respecto al testigo, mientras que el tratamiento con inclusión de 15g de probiótico tuvo un mayor factor de conversión alimenticia, los tratamientos con 10 y 15 g de probiótico en el alimento presentaron la mejor eficiencia alimenticia (Tabla 13, Tabla 14).

**Tabla 13**

*Media ± DE de tasa de crecimiento específico, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento*

Inclusión de probiótico	Tiempo (días)	TCE	FCA	EA
5g	10	0,8	2,86	35,00
	20	0,9	2,66	37,65
	30	1,9	1,15	86,80
	40	1,2	1,67	60,00
	50	2	1,20	83,03
	60	1,1	1,24	80,65
	70	1	1,27	78,98
	80	1,1	1,56	63,93
	90	0,9	1,76	56,73
	100	1	1,43	70,00
		10	1	1,42

CONTINÚA  


10g	20	1,6	1,51	66,15
	30	1,4	1,46	68,30
	40	1,3	1,44	69,55
	50	2,4	1,12	89,34
	60	1,2	1,02	16,60
	70	1	1,25	80,03
	80	1,7	1,73	57,73
	90	1,5	1,03	97,20
	100	1	1,43	70,00
	15g	10	1	1,88
20		1,5	2,75	36,35
30		1,9	1,19	83,75
40		1,4	1,30	76,80
50		2,5	1,50	124,44
60		0,8	1,57	63,75
70		1	1,25	80,00
80		0,8	1,35	74,25
90		1,2	1,03	97,40
100		0,9	1,19	84,00
0g	10	1	2,86	35,00
	20	0,3	2,09	11,00
	30	2,3	1,46	68,30
	40	0,7	2,15	19,40
	50	1,6	1,68	59,40
	60	1,6	1,40	71,50
	70	1,1	1,88	53,33
	80	0,8	2,18	45,77
	90	0,8	1,95	51,20
	100	1,1	1,43	70,00

EA: Eficiencia alimenticia; FCA: Factor de Conversión Alimenticia; TCE: Tasa de Crecimiento Especifico

#### Tabla 14

*Media  $\pm$  desviación estándar de tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA) y eficiencia alimenticia (EA) de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico*

Inclusión de probiótico	TCE	FCA	EA
0g	1,11 $\pm$ 0,16 b	2,91 $\pm$ 0,40b	48,49 $\pm$ 6,74b
5g	1,23 $\pm$ 0,17a	1,88 $\pm$ 0,35ab	65,28 $\pm$ 6,74ab
10g	1,21 $\pm$ 0,15a	1,84 $\pm$ 0,35ab	68,55 $\pm$ 6,74a
15g	1,19 $\pm$ 0,17 a	1,43 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	77,41 $\pm$ 6,74a

Columnas con letra semejante son estadísticamente iguales. (LSD Fisher;  $p < 0,05$ ). ( $p < 0,0001$ ;  $p < 0,0001$ ;  $p < 0,0015$ ).

EA: Eficiencia alimenticia; FCA: Factor de Conversión Alimenticia; TCE: Tasa de Crecimiento Especifico



La presencia de bacterias probióticas en el tracto digestivo tuvo como resultado el incremento de la TCE, FCA y la EA de los animales tratados con un producto probiótico, debido a la presencia de actividad antibacteriana y la producción de  $\alpha$ -amilasa (Telli, y otros, 2014).

### 4.3 Variables hematológicas

#### 4.3.1 Hematocrito, hemoglobina y glucosa.

El análisis de varianza para hematocrito y hemoglobina no dió como resultado un efecto estadísticamente significativo ( $F_{3, 6} = 1,42$ ;  $p = 0,25$ ) ( $F_{3, 6} = 1,15$ ;  $p = 0,346$ ). Mientras que la variable glucosa mostró diferencias entre tratamientos ( $F_{3, 6} = 8,28$ ;  $p = 0,0004$ ). Los peces sometidos al producto probiótico obtuvieron un contenido de glucosa en sangre superior respecto a los animales testigo (Tabla 15).

**Tabla 15**

*Promedio  $\pm$  desviación estándar de tasa de hematocrito, hemoglobina y glucosa de *Oncorhynchus mykiss* bajo una dieta con cuatro niveles de probiótico durante el experimento*

Inclusión de probiótico	Hematocrito (%)	Hemoglobina(g/dl)	Glucosa (mg/dl)
0g	45,89 $\pm$ 4,23 <sup>a</sup>	10,49 $\pm$ 3,07 <sup>a</sup>	78,27 $\pm$ 7,5b
5g	44,65 $\pm$ 3,26 <sup>a</sup>	8,25 $\pm$ 1,15 <sup>a</sup>	96,27 $\pm$ 17,89 <sup>a</sup>
10g	45,5 $\pm$ 2,87 <sup>a</sup>	10,45 $\pm$ 2,43 <sup>a</sup>	102,14 $\pm$ 15,08 <sup>a</sup>
15g	46,55 $\pm$ 3,24 <sup>a</sup>	8,14 $\pm$ 1,36 <sup>a</sup>	103,4 $\pm$ 23,07 <sup>a</sup>

Columnas con letra semejante son estadísticamente iguales (LSD Fisher;  $p < 0,05$ ).

mg: Miligramos; dL: Decilitro; g: Gramos; %: Porcentaje

En el estudio de (Crespo, 2018) señala que el hematocrito normal está en el rango de 30 % y 50 %. Los valores de hematocrito de *Oncorhynchus mykiss* determinados en esta investigación está dentro del rango normal para trucha arcoíris. El hematocrito es el principal indicador de alteraciones sanguíneas como anemia, la cual fue descartada en este estudio (Buenaño, 2008).

La concentración de hemoglobina se mantuvo en rangos típicos de la especie. Los animales del tratamiento testigo mostraron la mayor concentración de hemoglobina (10,49  $\pm$  3,07 g/dL)

con relación a los peces con 15 g de probiótico ( $8,14 \pm 1,36$  g/dL) lo que significa que existe una menor producción de glóbulos en los peces sometidos al producto probiótico ya que existe un menor gasto energético en los procesos de digestión (Buenaño, 2008) (Wintrobe, 1934).

La concentración de glucosa plasmática en los animales de los tratamientos de 10 g y 15 g se elevaron sobre el rango normal de la especie (70 - 100 mg/dL). La inclusión de 15 g de probiótico obtuvo una concentración de glucosa promedio de 103,4 mg/dL, dicho valor es alto y puede deberse a la alta actividad enzimática de las bacterias probióticas que degradan el glucógeno. Las bacterias con cualidades probióticas incrementan procesos como la glucólisis, así como el aumento de galactosa, y N-acetil glucosamina productos derivados de la glucosa (Freitas, y otros, 2003).

Uno de los indicadores de estrés en los peces es la concentración de glucosa en sangre debido a que en momentos de estrés los receptores celulares de insulina se ven alterados debido al aumento de hormonas como adrenalina y cortisol, por ende existe acumulación de glucosa en la sangre (Vijayan, Ballantyne, & Leatherland, 1997).

#### **4.3.2 Proteína total (PT), albúmina (Alb) y globulina (Gb)**

El análisis estadístico para proteína total no mostró un efecto estadísticamente significativo ( $F_{3,6} = 0,81$ ;  $p = 0,49$ ). Sin embargo los resultados de las variables albúmina y globulina dieron como resultado un efecto estadísticamente significativo entre tratamientos ( $F_{3,6} = 2,97$ ) y ( $F_{3,6} = 1,79$ ). Los peces sometidos a una dieta balanceada suplementada con 15g de probiótico mostraron el mejor contenido de albumina en sangre al día 100 del período experimental. La inclusión de 10 g y 15 g proporcionó los mejores contenidos de globulina en sangre (Tabla 16)

**Tabla 16**

*Medias  $\pm$  desviación estándar de proteína total, albúmina y globulina de *Oncorhynchus mykiss* suplementada en dieta con cuatro niveles de probiótico*

Niveles prob.	PT (g/dL)	Alb (g/dL)	Gb (g/dL)
0g	2,62 $\pm$ 0,15a	1,62 $\pm$ 0,33b	0,93 $\pm$ 0,16b
5g	2,52 $\pm$ 0,15a	1,34 $\pm$ 0,38ab	1,18 $\pm$ 0,16ab
10g	2,82 $\pm$ 0,15a	1,42 $\pm$ 0,04ab	1,40 $\pm$ 0,16a
15g	2,55 $\pm$ 0,15a	1,19 $\pm$ 0,19a	1,36 $\pm$ 0,16a

Columnas con letra semejante son estadísticamente iguales (LSD Fisher;  $p < 0,05$ ).

PT= Proteína total; Alb= Albúmina; Gb= Globulina; dL: Decilitro; g: Gramos

Según el estudio de (Buenaño, 2008), el contenido de proteína total en sangre se mantuvo dentro de los parámetros normales. En los peces testigo se notó un aumento de la concentración de albúmina (1,62 g/dL), dicho aumento es sinónimo de problemas hepáticos, problemas en los procesos de coagulación de la sangre y aumento de infecciones en el organismo; además de la disminución en la concentración de globulinas plasmáticas (0,93 g/dL) sinónimo de infecciones bacterianas, viral, inflamaciones según (Bittencourt & Molinari, 2003) (El-Khaldi, 2010).

#### 4.4 Análisis microbiológicos

Mediante el uso de medios de cultivo específicos y la utilización de baterías bioquímicas se logró identificar diferentes géneros y especies bacterianas (Tabla 17). El medio PDA fue descartado al no tener ningún crecimiento bacteriano en los diferentes tratamientos, los medios TSA y MK presentaron crecimiento y multiplicación de bacterias gram negativas de los géneros *Klebsiella* y *Pantoea*. En el medio MRS se presenta un crecimiento de bacterias de los géneros *Bacillus* y *Lactobacillus* en las muestras de los animales tratados con la inclusión de probióticos (Tabla 17, Tabla 18).

**Tabla 17**

*Resultados de las pruebas bioquímicas realizadas a las bacterias prevalentes del tracto digestivo de *Oncorhynchus mykiss* bajo el efecto de cuatro dosis de inclusión de probiótico*

INCLUSIÓN PROBIÓTICO	MEDIO	PRUEBAS BIOQUÍMICAS									
		OXIDASA	CATALASA	GAS	H <sub>2</sub> S	FERMENTACIÓN	CITRATO	AGUA PEPTONADA	MOVILIDAD	INDOL	ORNITINA
0 g	MRS	-	+	-	+	A/A	+	+	-	+	-
0 g	MK	+	+	+	+	A/A	+	+	-	+	-
0 g	MK	+	+	+	+	A/A	+	+	-	+	-
0 g	TSA	-	+	-	-	A/A	+	+	-	+	-
5 g	MK	-	+	+	+	A/A	+	+	-	+	-
5 g	MRS	-	-	-	-	A/A	+	-	+	-	-
10 g	MK	+	+	-	-	A/A	+	+	-	+	-
10 g	MRS	-	+	-	-	A/A	+	-	+	-	-
15 g	MRS	-	-	-	-	A/A	-	-	+	-	+
15 g	MRS	-	-	-	-	A/A	+	-	-	-	-

g: Gramos; -: Negativo; +: Positivo; A/A: Positivo para aprovechamiento de azúcares.

**Tabla 18**

*Géneros bacterianos prevalentes del tracto digestivo de *Oncorhynchus mykiss* bajo el efecto de cuatro dosis de inclusión de probiótico*

PROBIÓTICO	BACTERIA	MEDIO	FORMA	TINCIÓN GRAM	POSIBLE BACTERIA	% DE SIMILITUD
0 g	1	MRS	BACILOS	-	No identificada	
0 g	2	MK	COCOS	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	89.2
0 g	3	MK	COCOS	-	No identificada	
0 g	4	TSA	COCOBACILOS	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	99
5 g	5	MK	COCOS	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	90.1
5 g	10	MRS	BACILLOS	+	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. lactis	99
10 g	6	MK	COCOS	-	<i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>indologenes</i>	85.6
10 g	7	MRS	BACILLOS	+	<i>Lactobacillus mali</i>	96
15 g	8	MRS	BACILLOS	+	<i>Lactobacillus ghanensis</i>	93.6
15 g	9	MRS	BACILLOS	+	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. lactis	99

g: Gramos; -: Negativo; +: Positivo; %: Porcentaje.

En la investigación de (Suzer, y otros, 2008), mediante la utilización de *B. subtilis* lograron generar una población de *Lactobacillus* sp. a nivel intestinal mejorando los parámetros productivos y sanitarios.

La presencia de bacterias con propiedades benéficas como *Lactobacillus* se vieron evidenciadas en el tracto digestivo de los peces tratados con probióticos, en contraste a los peces del tratamiento testigo, donde se identificó bacterias patógenas del género *Klebsiella*.

El género *Klebsiella* es una enterobacteria que presenta una forma de coco y tinción gram negativa, se ha descrito como agente productor de histamina en los peces (Conroy, 2015).

Se evidenció una ausencia de microorganismos patógenos en las muestras de animales que fueron suministrados con probióticos con una concentración de 10 g y 15 g debido a que estas bacterias benéficas tienen la capacidad de crear una competencia de nutrientes, además de

liberación de compuestos antimicrobianos como superóxidos, surfactina, iturina y fengicina, que crean un ambiente contradictorio para el crecimiento de bacterias patógenas (Mantilla, 2018) (García , López , & Boucourt, 2015).

La inclusión de bacterias de los géneros *Bacillus* y *Paracoccus* en dietas balanceadas de tilapia mostró un efecto benéfico sobre la microbiota intestinal de los peces, mejorando los parámetros productivos, hematológicos y sanitarios (Mantilla, 2018).

## 4.5 Análisis económico

### 4.5.1 Infraestructura y equipos

En la Tabla 19 se pueden observar los costos de implementación de un proyecto de trucha arcoíris con 3 piscinas circulares de 10 m<sup>2</sup> cada una. Para la parte de infraestructura se tomó en cuenta: el terrero, paredes, tubería, y captación de agua, en los equipos se incluyó, balanza, redes de pesca, medidor multi paramétrico y un aireador.

**Tabla 19**

*Inversiones para el proyecto*

Descripción	Precio (\$)	Vida útil (años)	Depreciación (\$)
Infraestructura	600	10	60
Equipos	400	10	40
TOTAL	1000		100

\$. Dólares

### 4.5.2 Costos de producción

Los costos de producción fueron calculados para un año con 2 ciclos de producción, utilizando un número final de 2000 peces por tratamiento, alevines de \$0,1.

Considerando que el costo del alimento balanceado en la etapa de engorde es lo que más repercute y teniendo en cuenta el costo de \$33 el saco de 40 kg de alimento teniendo un costo de \$0,83/kgAB.

El costo del producto probiótico FreshPlus varía de acuerdo al tratamiento y al consumo de alimento balanceado, el cual fue calculado teniendo como base \$25 por kg de probiótico.

Se empleó 1,5 horas hombre/día para realizar tareas como alimentación, limpieza y mantenimiento de estanques.

El cálculo del costo de alimentación se obtuvo en base al factor de conversión alimenticia obtenido en la investigación (Tabla 20).

### Tabla 20

*Costos operativos para un año de cultivo de trucha arcoíris bajo el efecto de cuatro niveles de inclusión de probiótico*

INCLUSION DE PROBIOTICO	COSTOS VARIABLES (\$)			
	5g	10g	15g	0g
SEMILLA (ALEVINOS)	200	200	200	200
ALIMENTO BALANCEADO	624,16	610,88	475,66	966,12
PROBIÓTICO	84	184	214,5	0
AGUA	25	25	25	25
MOVILIZACIÓN	25	25	25	25
TRabajADOR	540	540	540	540
<b>COSTOS VARIABLES</b>	<b>1498,16</b>	<b>1584,88</b>	<b>1480,16</b>	<b>1756,12</b>
		COSTOS FIJOS (\$)		
INSTRUMENTOS DE LIMPIEZA	15	15	15	15
ELECTRICIDAD	25	25	25	25
MANTENIMIENTO	30	30	30	30
DEPRECIACIÓN	100	100	100	100
<b>TOTAL COSTOS FIJOS</b>	<b>170</b>	<b>170</b>	<b>170</b>	<b>170</b>
<b>TOTAL COSTOS OPERATIVOS</b>	<b>1668,16</b>	<b>1754,88</b>	<b>1650,16</b>	<b>1926,12</b>

### 4.5.3 Ingresos

El cálculo de los ingresos fue en base al peso corporal final de cada tratamiento, tomando en cuenta un total de 2 ciclos de producción al año esto para 1000 peces por ciclo.

Los ingresos mostraron que al proporcionar 15 g de probiótico por kg de alimento balanceado se obtuvo un beneficio neto de \$933,08 anuales en comparación al tratamiento testigo que obtuvo un beneficio de \$363,86 (Tabla 21).

**Tabla 21**

*Costo e ingreso anual en el cultivo de trucha arcoíris bajo el efecto de 4 niveles de inclusión de probiótico*

Inclusión de probiótico	Numero de peces	Biomasa (kg)	Ciclos/ año	Biomasa anual	Costo/kg	Ingreso neto	Costos operativos	Ingresos (\$)
0g	1000	208,18	2	416,36	5,5	2289,98	1926,12	363,86
5g	1000	226,02	2	452,04	5,5	2486,22	1668,16	818,06
10g	1000	229,16	2	458,32	5,5	2520,76	1754,88	765,88
15g	1000	234,84	2	469,68	5,5	2583,24	1650,16	933,08

g: Gramos; kg: Kilogramos; \$: Dólares

#### 4.5.4 Flujo de caja

Las Tablas 22, 23, 24, 25 son el resultado del flujo de caja por tratamiento para un tiempo de 5 años, dichos datos fueron calculados a partir de los costos de producción (Tabla 20), costos de infraestructura y equipos (Tabla 19).

Se consideró un incremento del 3% anual para los egresos operacionales y un incremento del 5% anual en el precio de trucha.

**Tabla 22**

*Flujo de caja para para una producción con 0 g de inclusión de probiótico en el alimento*

AÑOS	1	2	3	4	5	
INGRESOS ANUALES	2289,98	2404,48	2524,70	2650,94	2783,49	
Costos operacionales	1926,12	1983,90	2043,42	2104,72	2167,87	
Depreciaciones	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	
Utilidad antes pago a trabajadores	263,86	320,58	381,28	446,21	515,62	
15% Utilidad de pago a Trabajadores	39,58	48,09	57,19	66,93	77,34	
Utilidad antes de renta	224,28	272,49	324,09	379,28	438,28	
22% Utilidad de Renta	49,34	59,95	71,30	83,44	96,42	
Utilidad neta	174,94	212,54	252,79	295,84	341,86	
Inversión	-1000,00					
Depreciación	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	
<b>Flujo de fondos</b>	<b>-1000,00</b>	<b>274,94</b>	<b>312,54</b>	<b>352,79</b>	<b>395,84</b>	<b>441,86</b>



**Tabla 23***Flujo de caja para para una producción con 5 g de inclusión de probiótico en el alimento*

<b>AÑOS</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
INGRESOS ANUALES	2486,22	2610,53	2741,06	2878,11	3022,02	
Costos operacionales	1668,16	1718,20	1769,75	1822,84	1877,53	
Depreciaciones	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	
Utilidad antes pago a trabajadores	718,06	792,33	871,31	955,27	1044,49	
15% Utilidad de pago a Trabajadores	107,71	118,85	130,70	143,29	156,67	
Utilidad antes de renta	610,35	673,48	740,61	811,98	887,81	
22% Utilidad de Renta	134,28	148,16	162,93	178,63	195,32	
Utilidad neta	476,07	525,31	577,68	633,34	692,49	
Inversión	-1000,00					
Depreciación	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	
<b>Flujo de fondos</b>	-1000,00	576,07	625,31	677,68	733,34	792,49

**Tabla 24***Flujo de caja para para una producción con 10 g de inclusión de probiótico en el alimento*

<b>Años</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
Ingresos anuales		2520,76	2646,80	2779,14	2918,09	3064,00
Costos operativos		1754,88	1807,53	1861,75	1917,60	1975,13
Depreciación		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Utilidad antes pago a trabajadores		665,88	739,27	817,39	900,49	988,87
15% Utilidad de pago a Trabajadores		99,88	110,89	122,61	135,07	148,33
Utilidad antes de renta		566,00	628,38	694,78	765,42	840,54
22% Utilidad de Renta		124,52	138,24	152,85	168,39	184,92
Utilidad neta		441,48	490,14	541,93	597,02	655,62
Inversión	-1000,00					
<b>Flujo de fondos</b>	-1000,00	541,48	590,14	641,93	697,02	755,62

**Tabla 25***Flujo de caja para para una producción con 15 g de inclusión de probiótico en el alimento*

<b>Años</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
Ingresos anuales		2583,24	2712,40	2848,02	2990,42	3139,94
Costos operativos		1650,16	1699,66	1750,65	1803,17	1857,27
Depreciación		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Utilidad antes pago a trabajadores		833,08	912,74	997,37	1087,25	1182,67
15% Utilidad de pago a Trabajadores		124,96	136,91	149,61	163,09	177,40
Utilidad antes de renta		708,12	775,83	847,76	924,16	1005,27
22% Utilidad de Renta		155,79	170,68	186,51	203,32	221,16
Utilidad neta		552,33	605,14	661,25	720,85	784,11
Inversión	-1000,00					
Depreciación		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
<b>Flujo de fondos del proyecto</b>	-1000,00	652,33	705,14	761,25	820,85	884,11

Se contempló una inflación del 2,5 % y un 9 % para préstamos bancarios todo esto para los cálculos de indicadores financieros. La inclusión de 15 g por kg de alimento balanceado arrojó como resultado los indicadores financieros más destacados VAN, TIR y ROE superiores al resto de tratamientos, teniendo también un beneficio-costo de 1,57 es decir \$0,38 mayor al testigo, además de un tiempo de recuperación de la inversión de 1,49 años es decir 1,66 años menor al tratamiento testigo (Tabla 26).

**Tabla 26**

*Indicadores financieros para una producción acuícola con cuatro niveles de inclusión de probiótico en la dieta*

INCLUSIÓN DE PROBIÓTICO	Indicador Financiero				
	VAN	TIR	B/C	TRI	ROE
0 g	200,02	17,79	1,19	3,15 años	16,29%
5 g	528,35	26,51	1,49	1,68 años	32,19%
10 g	495,12	19,67	1,44	1,78 años	27,50%
15 g	650,67	30,75	1,57	1,49 años	37%

VAN: Valor actual neto; TIR: Tasa interna de retorno; B/C: Beneficio/Costo; TRI: Tasa de rentabilidad interna  
ROE: Rentabilidad financiera; g: gramos; %: Porcentaje.

El costo de producción para trucha arcoíris se redujo en un 14,33 % y los ingresos al primer año son 156,44 % con respecto al testigo al utilizar una inclusión de 15 g de probiótico por kilogramo de alimento, debido a que los parámetros productivos como factor de conversión alimenticia, eficiencia alimenticia se ven mejorados gracias a los beneficios de las bacterias probióticas de los géneros *Bacillus* y *Paracoccus* (Ingreso anual con 15 g: \$933,08; Ingreso anual con 0 g: \$363,86) (Tabla 21). El costo de alimentación en la acuicultura representa cerca del 52% del total de producción, y al aumentar el FCA y la EA los costos operativos disminuyen otorgando una mayor remuneración al productor (Mantilla, 2018).

El tratamiento con inclusión de 15 g de probióticos obtuvo los mejores indicadores financieros respecto al resto de tratamientos, para el VAN (Valor Actual Neto) obtuvo un valor de 650,67 a comparación del tratamiento testigo con 200,02, la inversión tendrá mayor ganancia por encima de la rentabilidad. El TIR determinó que la inclusión de 15 g de probióticos devuelve el capital invertido y una mayor ganancia. Para el beneficio/costo (B/C) el tratamiento de 15 g de inclusión de probiótico mostró que se obtiene una ganancia de \$0,57 por cada dólar invertido, superior en \$0,38 a los resultados del tratamiento 0 g; además mayor en \$0,08 y \$0,13 respecto a la inclusión de 5 g y 10 g de probiótico.

Para un proyecto acuícola de trucha arcoíris proyectado para 5 años y con una producción anual de dos ciclos y 1000 animales por ciclo de cultivo se obtuvo un TRI (Tiempo de Recuperación de la inversión) de 1,49 años, 1,66 años menos que el tratamiento testigo que presentó un TRI de 3,15 años. El ROE (Rentabilidad Financiera) para el tratamiento con inclusión de 15 g de probiótico mostró valores mayores, obteniendo una mejor rentabilidad al utilizar recursos propios.

Dentro de un sistema de producción, utilizando algún tipo de aditivos en el alimento balanceado los animales muestran mejor eficiencia alimenticia, y como resultado más beneficio en comparación con un sistema de producción convencional (Mantilla, 2018).

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- El administrar un producto probiótico a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. en el alimento balanceado generó un efecto positivo en la productividad de trucha arcoíris. Al incluir 15 g de probióticos por kilogramo de alimento balanceado se vió una mejora de los parámetros métricos dando como resultado un incremento de peso corporal de 12,81 %, 3,07 % de longitud total y 19,77 % de ancho total respecto a los animales sometidos al tratamiento testigo a los 100 días de ensayo.
- Los animales tratados con una inclusión de probiótico de 15 g en la dieta mostraron valores óptimos de hematocrito y hemoglobina además de los mejores contenidos de proteína total, albumina y globulina en sangre sinónimo de un mejor estatus sanitario.
- La presencia de bacterias con propiedades benéficas como *Lactobacillus* se vieron evidenciadas en el tracto digestivo de los peces tratados con probióticos, en contraste a los peces del tratamiento testigo, donde se identificó bacterias patógenas del género *Klebsiella* y *Pantoea* con un porcentaje de similitud superior al 85.
- La inclusión de 15 g por kg de alimento balanceado arrojó como resultado los indicadores financieros más destacados un VAN de 650,67, TIR: 30,75 y ROE: 37% superiores al resto de tratamientos, teniendo también un beneficio-costo de 1,57 es decir \$0,38 mayor al testigo, además de un tiempo de recuperación de la inversión (TRI) de 1,49 años es decir 1,66 años menor al tratamiento testigo

## 5.2 Recomendaciones

- Se recomienda el uso de complejos probióticos a base de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. con una dosificación de 15 g por kg de alimento balanceado en las etapas de crecimiento y engorde de *Oncorhynchus mykiss*.
- Se recomienda realizar análisis moleculares como metagenómica sobre los perfiles bacteriológicos de tracto digestivo de animales tratados con probióticos, para identificar bacterias con mayor seguridad.
- Se recomienda evaluar el efecto de *Bacillus* sp. y *Paracoccus* sp. en la productividad de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) utilizando dosificaciones superiores a los 15 g por kg de alimento balanceado, en etapas de crecimiento y engorde.
- Se recomienda realizar la toma de datos de parámetros métricos y productivos con un intervalo de 15 o 20 días para evitar estrés en los animales.

### 5.3 Bibliografía

- Alcaraz, L. (2010). Understanding the evolutionary relationships and major traits of *Bacillus* through comparative genomics. *BMC Genomics* , 11-332.
- Anon, K. (1998). *Probióticos en nutrición animal*. Obtenido de Hansem. Byo System. The Worlds microbialexperts: [www.chrhansen.com](http://www.chrhansen.com)
- Balcázar, J. (12 de 02 de 2002). *Uso de probióticos en acuicultura: aspectos generales*. CIVA, 877-881. . Obtenido de <http://www.civa2002.org>.
- Bittencourt, N., & Molinari, L. (2003). Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Biological sciences*, 385-389.
- Bortolozzo, F., & Kira, K. (2002). *Uso de los probióticosna alimentacio de frangos de corte*. *Appl. Environ.Microb.* 68:2344.
- Brown, M., Barrett, S., Volkman, J., Nearhos, S., Nell, J., & Allan, G. (1996). *Biochemical composition of new yeasts and bacteria evaluated as food for bivalve culture*. *Aquaculture*.
- Buenaño, M. (2008). Analisis hematológico de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres etapas de producción a una altitud de 3300 m, en la cuenca alta de la provincia del Napo
- Conroy, G. (02 de 04 de 2015). *Importantes enfermedades detectadas en tilapias cultivadas en américa central y del sur* . Obtenido de [http://www.ciabcr.com/charlas/jornadaacuicola/8\\_Enfermedades\\_en\\_Tilapias\\_Cultivadas\\_en\\_las\\_Americas.pdf](http://www.ciabcr.com/charlas/jornadaacuicola/8_Enfermedades_en_Tilapias_Cultivadas_en_las_Americas.pdf)
- Copeland, A. (04 de 02 de 2001). *Rhorobacter*. Obtenido de UniProtKB: <https://www.uniprot.org/proteomes/UP000000361>
- Crespo, C. (2018). Evaluación de Bluclizina en la estimulación del apetito en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en la etapa de engorde.
- De La Roche , A. (2012). *Manual de Procesos Técnicos - Centro de Investigaciones Acuicolas, CENIAC*. Papallacta, , Napo.
- El-Khaldi, A. (2010). Effect of different stress factors on some physiological parameters of Nile tilapia(*Oreochromis niloticus*). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 241-246 .
- FAO. (11 de 23 de 2012). *Visión general del sector acuícola nacional, Ecuador*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: [http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_ecuador/es](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_ecuador/es)
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. *Contribución a la seguridad alimentaria y nutrición para todos*, 8-23.

- FAO. (2016). *Oncorhynchus mykiss*, Programa de información de especies acuáticas. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Departamento de Pesca y Acuicultura: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus\\_mykiss/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/es)
- FAO. (06 de Abril de 2017). *Fisheries and Aquaculture Department, Statistical Query Results*. Obtenido de Food and Agriculture Organization of the United Nations: [http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hq\\_p\\_1518825198331098692.xml&outtype=html](http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hq_p_1518825198331098692.xml&outtype=html)
- Freitas, M., Tavan, E., Cayuela, C., Diop, L., Sapin, C., & Trugnan, G. (2003). *Indigenous bacteria and probiotics also play the game*. 503-506: *Biology of the Cell*.
- García , Y., López , A., & Boucourt, R. (2015). Probióticos: una alternativa para mejorar el comportamiento animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 39, núm. 2, 2005, 129-140.
- Graumann, P. (2012). *Bacillus: Cellular and Molecular Biology*. Caister Academic Press, 23-28.
- Guerrero, R. (2014). *Software Evaluación de proyectos de inversión*. Quito: EPN.
- Guillot, J. (2000). *The pros and cons of probiotics. Make probiotics work for poultry*. *World Poultry* 16:18.
- Jawets, L. (1996). *Microbiología médica*. Ed. El Manual Moderno. 15: 834.
- Lara , M., Olvera, M., & Gizmám, G. (2002). Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 216, 193-201.
- López, B. (26 de 11 de 2011). *Elaboración de un probiótico a base de microorganismos nativos y evaluación de su efecto benéfico en el proceso digestivo de la tilapia roja en etapa de engorde en la zona de Santo Domingo*. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/211/10/03%20AGP%2085%20REVICION%20LITERARIA.pdf>
- MAGAP. (11 de 23 de 2015). *Estado actual y proyección de la Acuicultura continental en el Ecuador*. Obtenido de <http://acuicultura.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2016/05/1-Estado-y-Proyecci%C3%B3n-de-la-Acuicultura-Ecuatoriana-Alejandro-de-la-Roche.pdf>
- MAGAP. (1 de Mayo de 2016). *ESTADO ACTUAL Y PROYECCIÓN DE LA ACUICULTURA CONTINENTAL EN EL ECUADOR*. Obtenido de Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca: <http://acuicultura.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2016/05/1-Estado-y-Proyecci%C3%B3n-de-la-Acuicultura-Ecuatoriana-Alejandro-de-la-Roche.pdf>
- MAGAP. (2016). *Productores de Sigchos se benefician con 3.000 alevines de trucha arco iris*. Obtenido de Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca - MAGAP:

<http://informacion.magap.gob.ec/zona3/index.php/noticias/noticias/424-productores-de-sigchos-se-benefician-con-3000-alevines-de-trucha-arco-iris>

- Mantilla, L. (2018). Efecto de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en la productividad de tilapia híbrida (*Oreochromis* sp.) en la zona de Nanegal.
- Monteros, A., & Salvador, S. (Diciembre de 2015). *PANORAMA AGROECONÓMICO DEL ECUADOR UNA VISIÓN DEL 2015*. Obtenido de Dirección de Análisis y Procesamiento de la Información, Coordinación General del Sistema de Información Nacional, Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca: [http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios\\_agroeconomicos/panorama\\_agroeconomico\\_ecuador2015.pdf](http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/panorama_agroeconomico_ecuador2015.pdf)
- Mora, V. (2009). “SITUACIÓN ACTUAL DE LAS ESPECIES INTRODUCIDAS EN EL ECUADOR CON FINES ACUÍCOLAS”. *ResearchGate*, 1-10.
- Muñoz, D., & Ortiz, J. (2008). *Inducción de triploidía mediante la estandarización del choque térmico en trucha arco iris (Oncorhynchus Mykiss) en el Centro de Investigaciones Acuicolas Ceniac, provincia de Napo, cantón Quijos, parroquia Papallacta*. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/292/browse?type=author&order=ASC&rpp=20&value=Munoz+Sevilla%2C+Daysi+Maribel>
- Naranjo, R., Gutierrez, L., & RB, D. (24 de 12 de 2015). *El uso de los probióticos en la industria acuícola. Artículo de revisión*. Obtenido de Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos: Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia Carrera 51 118 sur 57 Caldas - Antioquia - Colombia.A.A 50130
- Ortiz, J. (03 de 05 de 2006). *Acuicultura. Obtenido de Técnicas de manejo de trucha arcoiris*.
- Phillips, V. (15 de Octubre de 2010). *Manual Básico Para El Cultivo de Trucha Arco Iris, Manual de capacitación para la participación comunitaria*. Obtenido de SCRIBD: <https://es.scribd.com/doc/39395925/Manual-Basico-Para-El-Cultivo-de-Trucha-Arco-Iris-1>
- Pineda, M. (22 de 4 de 2016). *Uso de probióticos en alimentación de Tilapias para aumentar la productividad*. Obtenido de <https://pisciculturaglobal.com/uso-de-probioticos-en-alimentacion-de-tilapias-para-aumentar-la-productividad/>
- Pokniak, R. (1997). Nutrición de peces. *TecnoVet*, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.
- Ringo, E., Bendisken, H., Gausen, S., Sundsfjord, A., & Olsen, R. (1998). *The effect of dietary fatty acids on lactic acid bacteria associated with the epithelial mucosa and from faecalia of Atlantic charr, Salvelinus alpinus*. 855-864: Microbiol.



- Rodríguez , M., Rodríguez , G., Monroy , Y., & Mata , J. (2015). Manual de Enfermedades de Peces” Boletín del Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico. Año 4, Volumen 3, Número 15.
- Ruíz, A. (11 de 12 de 2007). *Efecto de la adición de Bacillus Subtilis, en dietas de pollo de engorde, sobre parámetros productivos, en el área de Chimaltenango*. Obtenido de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3733/1/Tesis%20Lic%20Zoot%20%20Alfonso%20Ruiz%20Gramajo.pdf>
- Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, H., Saka, S., Firat, K., Otgucuoglu , O., & Küçüksari, H. (2008). Lactobacillus spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 280), 140-145.
- Telli, G., Ranzani-Paiva, M., Carla Dias, D., Sussel, F., Ishikawa, C., & Tachibana, L. (2014). Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish & shellfish immunology*, 305-311.
- Uemoto, H., & Saiki, H. (2000). Nitrogen Removal by Tubular Gel Containing *Nitrosomonas europaea* and *Paracoccus denitrificans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 4224–4228.
- Verschuere, L., Heang, H., Criel, R., & Sogerloo, P. (2000). Selected bacterial strains protect *Artemia* spp. from the pathogenic effects of *Vibrio proteolyticus* CW8T2. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66 : 1139-1146.
- Vijayan, M., Ballantyne, J., & Leatherland, J. (1997). *Cortisol induced changes in some aspects of the intermediary metabolism of Salvelinus fontinalis*. 476-486: General and Comparative Endocrinology.
- Wallace, R., & Newbold, C. (03 de 03 de 1992). *Probiotics for ruminants*. En: Fuller, R. (Ed.). *Probiotics: the scientific basis*. Chapman and Hall, London, 317-353. Obtenido de <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00889646/document>
- Wintrobe, M. (1934). Variations of the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. *Folia Hematol., Leipzig*, 32-49.
- Zizhong, Q. (2009). *Probiotics in aquaculture of China*. Current state, problems and prospect”. *Aquaculture* 290. 15–21.