



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 spp. y *Paracoccus* sp. EN LA PRODUCTIVIDAD DE TILAPIA
HÍBRIDA (*Oreochromis* sp.) EN LA ZONA DE NANEGAL”**

AUTOR: MANTILLA GAMBOA, LIZBETH NATHALI

DIRECTOR: DR. ORTIZ TIRADO, JUAN CRISTÓBAL

SANGOLQUÍ

2018



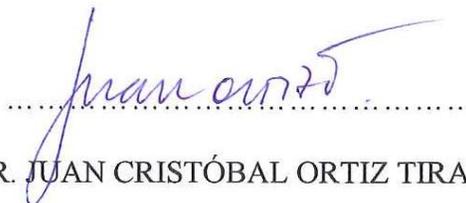
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, *“EFECTO DE UN COMPLEJO BACTERIANO A BASE DE Bacillus spp. y Paracoccus sp. EN LA PRODUCTIVIDAD DE TILAPIA HÍBRIDA (Oreochromis sp.) EN LA ZONA DE NANEGAL”*, fue realizado por la señorita *Mantilla Gamboa, Lizbeth Nathali* 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, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 23 de julio del 2018

Firma:



DR. JUAN CRISTÓBAL ORTIZ TIRADO

C.C. 170999816-3



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

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Mantilla Gamboa, Lizbeth Nathali*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *“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”*, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 23 de julio del 2018

Firma:

LIZBETH NATHALI MANTILLA GAMBOA

C.C. 172205117-2



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

*Yo, Mantilla Gamboa, Lizbeth Nathali, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación “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” en el Repositorio Institucional cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.*

Sangolquí, 23 de julio del 2018

Firma:



LIZBETH NATHALI MANTILLA GAMBOA

C.C. 172205117-2

DEDICATORIA

A Dios, su ayuda y voluntad divina ha permitido que culmine mi carrera profesional ¡Amén! A mis amados padres, a quienes agradezco por la vida, el amor, la confianza, la fuerza, comprensión, consejos y apoyo en mi carrera universitaria ¡Los amo! A mis hermanos, mis compañeros de vida, que son la brújula en mi camino ¡No los cambio por nada! A mi abuelito, que desde el cielo guía mi destino e influye en mis decisiones ¡Para siempre y por siempre papito Antonio! A mi abuelita Esther, mis tíos y tías que siempre estuvieron pendientes de mi bienestar y con alegría me dieron ánimos para seguir adelante ¡Son los mejores!

¡Por ustedes y para ustedes!

Lizbeth Mantilla G.

AGRADECIMIENTO

A Dios, en sus manos siempre pongo mi existencia, le doy gracias por su amor, bondad, y por permitirme sonreír ante todos mis logros que son resultado de su ayuda.

Quiero agradecer infinitamente al Dr. Juan Ortiz, por su apoyo, comprensión y tiempo invertido para la culminación de este trabajo. A la Ing. Daysi Muñoz, por su ayuda y predisposición en realizar cada etapa del proyecto.

Agradezco a Ecuaquímica, especialmente al Ing. Wladimir Armijos, por su gestión y motivación para que este proyecto se ejecute de la mejor manera. Al Centro Piscícola de Nanegal por facilitarme la propiedad para la instalación del ensayo, al Ing. Miguel Anasi por su paciencia y conocimientos impartidos en toda la fase de campo de este trabajo.

A Juan, Daniel, Carlos, Gustavo, Luis, Mauro, Lolita y Mikaela por su compañía, apoyo y colaboración durante los meses que estuve en el Centro Piscícola de Nanegal, ustedes hicieron más fáciles mis días de estadía.

A Betty, mi madre, agradezco su comprensión, apoyo en cada decisión y amor incondicional durante los meses ausentes en casa. A Eduardo, mi padre, por su preocupación y confianza. A mis hermanos, Erick y Sebas, por su cariño.

Agradezco a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria – IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por acogerme durante todos estos años en sus instalaciones, a mis profesores que fueron parte de este proceso integral de formación. A mis amigos Vale, Katty, May, Mary, Lis, Homo, Gus, compañeros y futuros colegas por haber compartido una etapa tan importante de mi vida.

Lizbeth Mantilla G.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CARÁTULA

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

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1	Antecedentes	1
1.2	Justificación.....	3
1.3	Planteamiento del problema	5
1.4	Objetivos	6
1.5	Hipótesis.....	7

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.1	Acuicultura mundial	8
2.2	Acuicultura en Ecuador	9
2.3	Tilapia.....	10
2.3.1	Consideraciones generales	10
2.3.2	Taxonomía.....	11
2.3.3	Morfología.....	12
2.3.4	Condiciones y parámetros de cultivo de tilapia	13
2.3.5	Ciclo de producción	14
2.3.5.1	Hábitos reproductivos	14
2.3.5.2	Desarrollo y etapas	17

	vii
2.3.5.3 Alimentación	17
2.3.6 Enfermedades	19
2.3.6.1 Enfermedades bacterianas	19
2.3.6.2 Enfermedades micóticas.....	20
2.3.6.3 Enfermedades parasitarias	20
2.4 Probióticos en acuicultura	21
2.4.1 Definición.....	21
2.4.2 Situación actual	22
2.4.3 Aplicación de probióticos en Acuicultura	23
2.4.4 Mecanismo de acción	24
2.4.4.1 Producción de componentes inhibitorios	24
2.4.4.2 Competencia por los sitios de adhesión	25
2.4.4.3 Modulación de la respuesta inmune	25
2.4.5 Producto comercial FreshPlus.....	25
2.4.5.1 <i>Bacillus</i> spp.	25
2.4.5.1.1 Taxonomía.....	25
2.4.5.1.2 Generalidades	26
2.4.5.1.3 Interés industrial.....	26
2.4.5.2 <i>Paracoccus</i> sp.	27
2.4.5.2.1 Taxonomía.....	27
2.4.5.2.2 Generalidades	28
2.4.5.2.3 Importancia industrial	28
2.4.5.3 Beneficios del producto FreshPlus	29
2.4.5.4 Recomendaciones de uso para FreshPlus.....	29
2.4.5.5 Almacenaje y manejo de FreshPlus	29

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Ubicación del lugar de investigación	30
3.1.1 Ubicación Política	30
3.1.2 Ubicación geográfica.....	30
3.1.3 Ubicación ecológica	31
3.2 Material experimental	32

	viii
3.2.1	Biológicos.....32
3.2.2	Insumos de campo.....32
3.2.3	Equipos.....32
3.2.4	Insumos laboratorio.....33
3.2.5	Reactivos34
3.3	Métodos.....35
3.3.1	Instalación del ensayo35
3.3.2	Siembra de organismos36
3.3.3	Alimentación de los organismos36
3.4	Diseño experimental.....37
3.4.1	Factores37
3.4.2	Tratamientos.....37
3.4.3	Tipo de diseño38
3.4.4	Características de las unidades experimentales.....38
3.4.5	Croquis del diseño.....38
3.5	Variables a medir38
3.5.1	Variables de calidad de agua.....38
3.5.2	Variables métricas39
3.5.2.1	Peso39
3.5.2.2	Talla.....39
3.5.3	Parámetros Productivos.....39
3.5.3.1	Ganancia de peso.....39
3.5.3.2	Tasa de crecimiento específico39
3.5.3.3	Factor de conversión alimenticia.....39
3.5.3.4	Eficiencia alimenticia40
3.5.3.5	Índice de condición corporal40
3.5.4	Variables hematológicas40
3.5.4.1	Toma de muestra de sangre.....40
3.5.4.2	Hematocrito (Hcto)41
3.5.4.3	Hemoglobina (Hb).....41
3.5.4.4	Glucosa (Gluc)42
3.5.4.5	Proteína total (PT).....42

	ix
3.5.4.6	Albúmina (Alb)43
3.5.4.7	Globulina (Glob)44
3.5.5	Análisis microbiológicos a nivel intestinal44
3.5.5.1	Toma de muestras.....44
3.5.5.2	Siembra de microorganismos44
3.5.5.3	Identificación bacteriana45
3.6	Análisis estadístico45
3.7	Análisis funcional.....46
3.8	Análisis de indicadores financieros47

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Resultados48
4.1.1	Variables ambientales48
4.1.2	Variables métricas49
4.1.2.1	Peso, largo total y ancho total49
4.1.3	Parámetros productivos52
4.1.3.1	Ganancia de peso e índice de condición corporal52
4.1.3.2	Tasa de crecimiento específico, factor de conversión y eficiencia alimenticia54
4.1.4	Relaciones entre variables ambientales y productivas56
4.1.5	Variables hematológicas58
4.1.5.1	Glucosa, Hemoglobina y Hematocrito58
4.1.5.2	Proteína total, Albúmina y Globulina58
4.1.6	Análisis microbiológicos a nivel intestinal59
4.1.7	Análisis económico60
4.2	Discusión65
4.2.1	Parámetros métricos y productivos65
4.2.2	Parámetros hematológicos.....67
4.2.3	Análisis microbiológico a nivel intestinal69
4.2.4	Análisis económico70

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

		x
5.1	Conclusiones	72
5.2	Recomendaciones	73
5.3	Bibliografía.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Talla y peso de los diferentes estadios de desarrollo en tilapia</i>	17
Tabla 2	<i>Requerimientos nutricionales de proteína, carbohidratos y lípidos para tilapia</i>	18
Tabla 3	<i>Requerimientos óptimos de vitaminas y minerales para tilapia</i>	18
Tabla 4	<i>Ración alimenticia para tilapia</i>	18
Tabla 5	<i>Principales cepas probióticas utilizadas en acuicultura</i>	23
Tabla 6	<i>Ración alimenticia para tilapia</i>	36
Tabla 7	<i>Descripción de tratamientos</i>	37
Tabla 8	<i>Pruebas bioquímicas para identificación bacteriana</i>	45
Tabla 9	<i>Análisis de varianza para un DCA con 4 tratamientos y 3 repeticiones.</i>	46
Tabla 10	<i>Variables ambientales medidas durante el ensayo</i>	48
Tabla 11	<i>Promedio \pm desviación estándar del peso corporal, largo total y ancho total de <i>Oreochromis</i> sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico.</i>	49
Tabla 12	<i>Promedio \pm desviación estándar de ganancia de peso e índice de condición corporal de <i>Oreochromis</i> sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico.</i>	53
Tabla 13	<i>Promedio \pm desviación estándar de tasa de crecimiento específico, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia de <i>Oreochromis</i> sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico.</i>	55
Tabla 14	<i>Coefficientes de correlación de Pearson para las variables ambientales y productivas con inclusión en dieta de probiotico</i>	56
Tabla 15	<i>Coefficientes de correlación de Pearson para las variables ambientales y productivas sin inclusión en dieta de probiotico</i>	57
Tabla 16	<i>Promedio \pm desviación estándar de glucosa, hemoglobina y hematocrito de <i>Oreochromis</i> sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico.</i>	58

Tabla 17	<i>Promedio \pm desviación estándar de proteína total, albúmina y globulina de <i>Oreochromis</i> sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico.</i>	59
Tabla 18	<i>Géneros bacterianos del tracto digestivo de <i>Oreochromis</i> sp.</i>	60
Tabla 19	<i>Inversiones para el proyecto.</i>	60
Tabla 20	<i>Costos operativos para el tratamiento testigo proyectados a 5 años.</i>	61
Tabla 21	<i>Costos operativos para el tratamiento con 5g de inclusión de probiótico en dieta proyectados a 5 años.</i>	61
Tabla 22	<i>Costos operativos para el tratamiento con 10g de inclusión de probiótico en dieta proyectados a 5 años.</i>	62
Tabla 23	<i>Costos operativos para el tratamiento con 15g de inclusión de probiótico en dieta proyectados a 5 años.</i>	62
Tabla 24	<i>Ingresos anuales percibidos en el proyecto</i>	63
Tabla 25	<i>Flujo de caja para el tratamiento testigo.</i>	63
Tabla 26	<i>Flujo de caja para el tratamiento con 5g de inclusión de probiótico en dieta.</i>	64
Tabla 27	<i>Flujo de caja para el tratamiento con 10g de inclusión de probiótico en dieta.</i>	64
Tabla 28	<i>Flujo de caja para el tratamiento con 15g de inclusión de probiótico en dieta</i>	64
Tabla 29	<i>Indicadores financieros por nivel de inclusión de probiótico en dieta.</i>	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ciclo de cultivo de la tilapia	16
Figura 2	Ubicación política de la parroquia Nanegal.....	30
Figura 3	Ubicación geográfica del Centro Piscícola de Nanegal.....	31
Figura 4	Croquis diseño experimental	38
Figura 5	Comportamiento del pH y concentración de amoníaco durante experimento.....	49
Figura 6	Promedio + error estándar del peso corporal (g) a través del tiempo.....	51
Figura 7	Promedio + error estándar del largo total (cm) a través del tiempo.	52
Figura 8	Promedio + error estándar del ancho total (cm) a través del tiempo.....	52
Figura 9	Promedio + error estándar de la ganancia de peso (g/día) a través del tiempo	54
Figura 10	Biplot: Relaciones entre variables ambientales y productivas	57

RESUMEN

El control de la alimentación es fundamental en acuicultura ya que influye en los ritmos de crecimiento de los peces y rentabilidad del proyecto. En este estudio se evaluó el efecto de cuatro niveles de inclusión (0, 5, 10, y 15g) de un complejo bacteriano a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en dieta balanceadas para crecimiento y engorde de *Oreochromis* sp.. El estudio se desarrolló con 144 animales con un peso promedio inicial de $42,64 \pm 0,68$ g distribuidos en 12 unidades experimentales. Bajo estas condiciones se determinó variables métricas y productivas cada 10 días durante un período de 100 días, se realizó un análisis microbiológico a nivel intestinal a los 100 y 135 g de peso vivo y un análisis hematológico al término del ensayo. Los animales testigo reportaron diferencias significativas con el resto de tratamientos en peso corporal ($p < 0,0001$), largo total ($p < 0,0001$) y ancho total ($p = 0,0192$). El aumento de pH y la elevación en concentración de NH₃ en el agua se relacionaron directamente en la afectación de ganancia de peso, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia en animales testigo, además se constató la presencia bacterias patógenas como *Morganella*, *Raoultella* y *Edwardsiella*, no presentes en el resto de tratamientos. La inclusión de 5g de probiótico reportó un incremento de 17,91% en peso corporal, 9,32% en largo total, 5,83% en ancho total y un beneficio-costo mayor en \$0,52 con relación al tratamiento testigo.

Palabras clave:

- **OREOCHROMIS** sp.
- **BACILLUS** spp.
- **PARACOCCLUS** sp.
- **DIETA**
- **PROBIÓTICO**

ABSTRACT

The control of the feeding is fundamental in aquaculture since it influences in the rhythms of growth of the fish and profitability of the project. In this study we evaluated the effect of four levels of inclusion (0, 5, 10, and 15g) of a bacterial complex based on *Bacillus* spp. and *Paracoccus* sp. in balanced diet for growth and fattening of *Oreochromis* sp..The study was developed with 144 animals with an initial average weight of 42.64 ± 0.68 g distributed in 12 experimental units. Under these conditions, metric and productive variables were determined every 10 days during a period of 100 days, a microbiological analysis was carried out at intestinal level at 100 and 135g of live weight and a haematological analysis at the end of the trial. The control animals reported significant differences with the rest of treatments in body weight ($p < 0.0001$), total length ($p < 0.0001$) and total width ($p = 0.0192$). The increase in pH and the increase in NH₃ concentration in the water were directly related to the affectation of weight gain, feed conversion factor and feeding efficiency in control animals, besides the presence of pathogenic bacteria such as *Morganella*, *Raoultella* and *Edwardsiella*, not present in the other treatments. The inclusion of 5g of probiotic reported an increase of 17.91% in body weight, 9.32% in total length, 5.83% in total width and a benefit-cost greater in \$ 0.52 in relation to the control treatment.

Keywords

- **OREOCHROMIS** sp.
- **BACILLUS** spp.
- **PARACOCUS** sp.
- **DIET**
- **PROBIOTIC**

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En el Ecuador la industria acuícola se ha diversificado, siendo el cultivo de tilapia una de las actividades acuícolas que ha presentado un gran crecimiento en los últimos años. Este aumento en la producción de tilapia fue incentivado por las 14000 hectáreas de estanques camaroneros que fueron abandonados después del Síndrome de Taura, patología que afectó a criaderos en la provincia del Guayas. Esta infraestructura disponible facilitó la introducción de tilapia como alternativa de cultivo acuícola a partir de 1995 (FAO, 2012).

La tilapia es un pez de origen tropical, cuyo cultivo e industrialización es una actividad prácticamente nueva en el país, pero con un gran potencial económico. Hace menos de una década, nadie hubiera imaginado que el desarrollo de las granjas de tilapia en nuestro país, hubiesen alcanzado la importancia industrial y tecnológica que tienen actualmente. En los últimos 50 años, el interés por la industria acuícola comenzó a centrarse como una importante alternativa de producción pecuaria llevándola a su distribución a nivel mundial (PRODUMAR, 2015).

Sin embargo, aún cuando este pez es muy rústico y tolerante, la producción comercial de tilapia presenta varios desafíos para controlar calidad de agua y resistencia enfermedades, manejar altas densidades de carga en estanques, y mejorar parámetros productivos de la especie. La biotecnología moderna en acuicultura ha desarrollado productos que enfrentan estos desafíos mediante la utilización de diversos microorganismos denominados probióticos, denominados así por su acción opuesta a la de los antibióticos (la palabra probiótico deriva del griego "pro-vida",

es decir "a favor de la vida", en oposición al término antibiótico que significa "contra la vida"), creando barreras biológicas en los peces en cautiverio (López, 2011).

El primer probiótico usado comercialmente en acuicultura se registró en 1992 y fue una cepa no patógena de *Vibrio alginolyticus* que permitió mejorar sustancialmente el rendimiento en viveros de camarones en Ecuador y México (Verschuere, Heang, Criel, & Sogerloo, 2000).

Las bacterias más comunes relacionadas con actividad probiótica son: *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. casei GG*; *Bifidobacterium brevis*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. animalis*; *Streptococcus salivaris* subespecie *thermophilus*, algunas gram negativas como *Paracoccus* sp. y algunas variedades de levaduras como *Saccharomyces boulardii* (Gatesoupe, 1999).

La adición de probióticos en cultivos acuícolas está relacionado al concepto de la bioremediación, este concepto comprende el tratamiento de contaminantes tóxicos degradación de materia orgánica, eliminación de materiales tóxicos tales como amonio, nitritos y sulfatos de hidrógeno; así como alimento para animales acuáticos y producción de sustancias inhibitorias (Moriarty, 1998).

Los probióticos pueden definirse como microorganismos vivos que, ingeridos en cantidad adecuada, ejercen efectos beneficiosos en la salud intestinal, más allá de los inherentes a la nutrición básica. Bajo este concepto en la región de Sao Paulo de Brasil, el Instituto de Pesca llevó a cabo un estudio con Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*, línea GIFT) en condiciones de laboratorio, en el cual revelaron que el empleo de promotores de la salud intestinal es positivo en cuanto a rendimiento y rentabilidad en campo. Las tilapias alimentadas con suplemento probiótico, mostraron aumento en parámetros de producción logrando 4,7% en la supervivencia, 2,8% mayor al peso final. La biomasa que se cosechó fue 7,7% significativamente más alta para

el grupo bajo estudio que el grupo control. Los promotores de salud intestinal utilizados en este estudio impulsaron una mejora en la supervivencia, crecimiento, conversión y composición del alimento, dando como resultado un 7.7% de mejora de la productividad. Y lo más importante, se demostró que el aditivo para el alimento reportó 9.9% más de ingresos para los productores retornando 2,2% sobre la inversión (Pineda, 2016).

En un estudio realizado por (Queiroz & Boyd, 1998) se confirmó el efecto benéfico de preparaciones a base de *Bacillus* spp. en la salud intestinal de cultivos de tilapia, bagre y camarón (Moriarty, 1998) seleccionó cepas de *Bacillus* spp. con resultados antibióticos contra *Vibrio* sp. en cultivos de tilapia.

En el nuestro país, el uso de probióticos en el sector acuícola se caracteriza por ser una práctica limitada y nueva, puesto que dicho uso es poco estudiado y se desconoce el efecto de microorganismos con capacidad probiótica en la productividad de estas especies (Pineda, 2016).

1.2 Justificación

Con el fin de mitigar los problemas nutricionales y alimenticios del sector rural mediante el consumo de tilapia, en 1981 se creó el Centro Piscícola Nanegal, como una alternativa para su solución. Así, a través de su infraestructura el Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Pichincha en el transcurso de los años ha abastecido a la comunidad de alevines reversados y carne de tilapia contribuyendo de esta forma tanto al fomento productivo y a la seguridad alimentaria de la zona rural.

Sin embargo, el crecimiento acelerado de sistemas de cultivo de tilapia en el sector dado por el aumento del consumo per cápita de proteína animal a nivel mundial, la grave contaminación de fuentes hídricas y la expansión de la frontera agrícola, implican que en producciones intensivas y semintensivas, se desencadene condiciones estresantes en los animales en cautiverio, generando

problemas relacionados con la presencia de enfermedades oportunistas, afectación al medio ambiente y pérdidas económicas por parte de los productores.

Uno de los principales problemas del sector es la temperatura, los rangos óptimos de temperatura en la producción de tilapia van desde 28°C a 32 °C, normalmente en el sector de Nanegal la temperatura del agua fluctúa en rangos de 22 a 25 °C, lo cual causa problemas en la tasa metabólica y ritmo de crecimiento, los animales son más susceptibles a enfermedades y a estrés constante.

Por esta razón la industria se ha visto obligada a la búsqueda de nuevos ingredientes alternativos que mejoren la capacidad digestiva y vigorosidad y permita a los peces en cultivo hacer frente a las enfermedades. Existen productos en el mercado nacional e internacional que regulan la flora bacteriana intestinal a través de diversos microorganismos, permitiendo una reducción parcial o total del uso de estos antibióticos, con un beneficio en el rendimiento.

La adición de probióticos en la alimentación de tilapia, permite proporcionar una microflora intestinal segura, estable y sana, con el potencial para influir directamente en la eficiencia digestiva de los peces, teniendo como resultado la promoción natural de un crecimiento eficaz y una barrera natural contra las infecciones, enfermedades y patógenos.

Por lo anteriormente expuesto, en el presente proyecto se busca utilizar el producto comercial FreshPlus como un suplemento nutricional que consiste en una mezcla sinérgica de bacterias no patógenas *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. que permite incrementar el rendimiento y supervivencia de los organismos, estableciendo una flora bacteriana beneficiosa y protectora, debido a que las cepas del producto se multiplican rápidamente en el agua formando una barrera protectora contra

patógenos oportunistas, reduciendo el riesgo de infecciones bacterianas, así como también mantiene una mejor calidad de agua, con gran capacidad de degradar materia orgánica.

1.3 Planteamiento del problema

1.3.1 El Problema

La acuicultura ha tenido en los últimos años adelantos significativos en cuanto a la producción de una amplia variedad de organismos acuáticos, siendo el de mayor explotación comercial la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) (Saavedra, 2006).

Los sistemas convencionales de producción de esta especie en la última década cambian por la necesidad de grandes cantidades de agua, la cual es cada vez más escasa, dado por el aumento de la contaminación de los cuerpos de agua (descargas orgánicas, urbanas, rurales, residuos de producciones pecuarias y liberación de componentes químicos). Esto genera en la producción piscícola de la región subtropical de Ecuador, un estrés constante de las biomásas en cautiverio, que se traduce en bajas tasas de crecimiento y presencia de enfermedades oportunistas con altas tasas de mortalidad. Como resultado de estos sucesos en la piscicultura de esta región, genera pérdida económica en el pequeño y mediano productor, así como un desincentivo de la industria acuícola continental.

1.3.2 Efectos

- Afectación a la productividad nacional en sectores piscícolas a pequeña y mediana escala, con alta susceptibilidad a enfermedades con altas tasas de mortalidad, alteraciones metabólicas, afectando en ritmos de crecimiento.
- Sistemas de cultivos acuícolas poco tecnificados con elevados costos de producción.

1.3.3 Causas

- Enfoque de productores de la zona en explotaciones relacionadas a la producción de bovinos y palma africana, lo que genera expansión de la frontera agrícola, aumentando espacios de pastizales, deforestación y contaminación del recurso agua en las cuencas principales debido al manejo inadecuado de residuos.
- Acumulación de residuos sólidos, materia orgánica y compuestos inorgánicos tóxicos en las fuentes hídricas del sector, dado por las descargas de zonas urbanas. Temperatura ambiental por debajo de rangos óptimos para cultivo.
- Falta de conocimientos técnicos – científicos y alternativas tecnológicas para una producción sostenible, con uso responsable de fuentes hídricas por parte de los productores del sector.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en la productividad de tilapia híbrida en etapa de crecimiento y engorde, en Nanegal, provincia de Pichincha.

1.4.2 Objetivos específicos

- Analizar los parámetros productivos de tilapia híbrida con un enfoque a la condición sanitaria, bajo la inclusión en dietas balanceadas de tres niveles de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp.
- Determinar los perfiles de flora bacteriana a nivel intestinal en el cultivo de tilapia bajo la inclusión en dietas balanceadas de tres niveles de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp.

- Determinar los indicadores financieros ROE, TIR, VAN, beneficio-costo y TRI proyectados para una producción industrial y acorde a los resultados de los tratamientos experimentales.

1.5 Hipótesis

H0. “La inclusión de un complejo probiótico a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp., en dietas balanceadas para el cultivo de tilapia en etapa de engorde, mantiene los parámetros productivos en relación a un sistema tradicional de cultivo”.

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

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.1 Acuicultura mundial

El crecimiento del suministro de pescado para el consumo humano ha sido producto de la acuicultura. En 1974, la acuicultura proporcionó solo el 7% del pescado para consumo humano, en 1994 el porcentaje aumentó a un 26% y 39% en 2004, respectivamente. En 2004, la producción acuícola ascendió a 73,8 millones de toneladas, con un valor de primera venta estimado de 160.200 millones de dólares (FAO, 2016).

En 2014, se reportó que alrededor de 56 millones de personas trabajaban en el sector primario (pesca y acuicultura). La proporción de personas que se dedicaba a la acuicultura aumentó del 17% en 1990 al 33% en 2014. En el periodo comprendido entre los años 2005-2010, la participación total en el sector no aumentó. En general, el empleo se redujo, con un descenso de unos 1,5 millones de pescadores, pero se tuvo estabilidad considerable de participación en la acuicultura (FAO, 2016).

El consumo per cápita de pescado en el mundo registró un aumento de 9,9 kg en 1960 a 14,4 kg en 1990, 19,7 kg en 2013 y 20 kg en 2014-2015, respectivamente. Aunque el consumo anual per cápita de pescado ha aumentado de forma continua en las regiones en vías de desarrollo, este es muy inferior al consumo en países industrializados (26,8 kg en 2013). En 2013, el pescado representó alrededor del 17% de la ingestión de proteínas animales de la población mundial y el 6,7% de las proteínas consumidas en total (FAO, 2016).

Se estima que a futuro la producción acuícola en el mundo aumente y se sitúe en 2025 en alrededor de 196 millones de toneladas. Esto representa un incremento de 17% entre el período

2013-2015 y el año 2025, siendo la totalidad de aumento de producción en países subdesarrollados. La creciente demanda de pescado y productos pesqueros se cubrirá principalmente con el aumento de la oferta procedente de la producción acuícola (FAO, 2016).

La contribución de la acuicultura a la producción pesquera mundial aumentará del 44% de media en 2013-2015 y superará a la pesca de captura en 2021. En 2025, esta cuota alcanzará el 52%. Esta circunstancia pone de relieve el inicio de una nueva etapa e indica que la acuicultura se convertirá en el principal impulsor del cambio en el sector pesquero y acuícola (FAO, 2016).

2.2 Acuicultura en Ecuador

Ecuador está ubicado en la costa del Pacífico y cuenta con una superficie de 256370 km². Alrededor del 95% de la acuicultura en el país corresponde al cultivo del camarón marino (*Litopenaeus* sp.), el cultivo de Tilapia se ubica en segundo lugar, cultivo que ha aumentado notoriamente en los últimos años, el porcentaje restante corresponde al cultivo de otros peces y crustáceos de agua dulce. La trucha Arco Iris, tiene su mayor desarrollo en la región sierra o interndina, por otro lado el cultivo de Chame cuenta con avances en su producción en la región Costa (FAO, 2012).

Una de las principales fuentes de empleo y generadora de divisas en el Ecuador ha sido la acuicultura y en especial la camaronicultura (MAGAP, 2015). Según la Cámara Nacional de Acuicultura del Ecuador, las exportaciones de camarón ecuatoriano llegaron a 11400 toneladas exportadas en 1998, con 875 millones de dólares. En el año 2000 la producción camaronera se vio afectada por el virus de la Mancha Blanca sobre la actividad camaronera, con una producción total 37,7 mil toneladas. En 2002 el Ecuador exportó de 46,8 mil toneladas exportadas, 3,24% más en relación del año anterior.

El cultivo de Tilapia ha tenido considerable aumento debido a la infraestructura disponible tras el abandono de miles de hectáreas de estanques camaroneros después del brote del Síndrome de Taura, patología que afectó alrededor de 14 000 ha de cultivos en la provincia del Guayas. Esta afectación facilitó la introducción de la tilapia como una alternativa de cultivo para los productores de la zona, actualmente existen cerca de 4000 ha dedicadas al cultivo de tilapia (FAO, 2012).

La producción acuícola del Ecuador es exportada casi en su totalidad, ya que no existe mercado interno que sea abastecido por la actividad acuícola. El sector acuícola es generador de empleo para la clase económica más baja del país, el mayor porcentaje de grupos camaroneros y tilapieros son manejados por grupos de mediano y alto poder económico (FAO, 2012).

2.3 Tilapia

2.3.1 Consideraciones generales

En países en vía de desarrollo a nivel mundial, el cultivo de tilapia es de gran importancia en la producción de proteína animal (Lara , Olvera, & Gizmám, 2002). Esta especie es cultivada en alrededor de 100 países y está situada en el segundo puesto en la producción mundial con 1,6 millones de toneladas métricas al año (Quiñonez, 2008). Esta cifra ha permitido que la tilapia conquiste todo tipo de mercados, en países desarrollados y en vía de desarrollo. Esta especie habita en su mayoría en las regiones tropicales a nivel mundial, donde las condiciones son favorables para su reproducción y crecimiento. El género *Oreochromis* se considera de mayor importancia dentro de los cultivos comerciales existentes, entre todas las especies pertenecientes a este género, la tilapia del Nilo o tilapia nilótica y la tilapia híbrida son las de mayor aceptación y producción a nivel mundial.

El origen de esta especie es el sur de África Central y a partir de 1939, comenzó su distribución, de tal forma que, hoy en día, se la encuentra en casi todo el mundo; debido especialmente a su valor comercial y también a su valor social. Ecuador, Costa Rica y Honduras exportan el filete fresco de tilapia cultivada a mercados en Norteamérica. Adicionalmente existe comercio internacional importante de esta especie entre varios de los países latinoamericanos (Pronaca, 2008). La tilapia fue introducida al Ecuador en los años ´80, inicialmente el ingreso de la especie se la manejo como cultivo artesanal, luego en noviembre de 1993 se registra la primera exportación de tilapia en presentación de producto congelado y a fines de 1995, comienza la exportación a escala industrial (Notarianni, 2006).

2.3.2 Taxonomía

La tilapia nilótica tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Clase:	Actinopterygii
Orden:	Perciformes
Familia:	Cichlidae
Género:	Oreochromis
Especie:	<i>O. niloticus</i> , <i>O. aureus</i> , <i>O.hornorum</i> , <i>O.mossambica</i>

La tilapia roja, pez que taxonómicamente no responde a un nombre científico, es el producto del cruce de cuatro especies de tilapia, tres de ellas de origen africano *Oreochromis mossambica* (Tilapia Mozambique), *Oreochromis aureus* (Tilapia Dorada), *Oreochromis hornorum* (Tilapia Mojarra), y una cuarta *Oreochromis niloticus* (Tilapia del Nilo); el cruce selectivo permitió la

obtención de un pez cuya coloración fenotípica puede ir desde el rojo cereza hasta el albino, con manchas negras o completamente negro (López, 2011).

2.3.3 Morfología

La tilapia presenta un cuerpo comprimido y discoidal, sutilmente alargado y generalmente ancho, presenta un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza. Las mandíbulas presentan dientes cónicos e incisivos. Posee aletas pares las cuales son pectorales y ventrales; las aletas impares son las aletas dorsales, la caudal y la anal; la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas en forma de cresta. La aleta caudal es redonda, trunca y raramente cortada, como en todos los peces, esta aleta le sirve para mantener el equilibrio del cuerpo durante la natación y al lanzarse en el agua (Saavedra, 2006).

La diferenciación visual externa de los sexos en esta especie se basa en que el macho presenta dos orificios bajo el vientre: el ano y el orificio urogenital, mientras que la hembra posee tres: el ano, el poro genital y el orificio urinario. El ano es un agujero redondo, el orificio urogenital del macho se presenta como un pequeño punto, el orificio urinario de la hembra es microscópico, mientras que el poro genital se encuentra en una hendidura perpendicular al eje del cuerpo (Saavedra, 2006).

2.3.4 Condiciones y parámetros de cultivo de tilapia

Según (Saavedra, 2006), indica que para tener el óptimo desarrollo de tilapia, los requerimientos medio ambientales se deben mantener en los valores que se detalla a continuación:

- Temperatura: la temperatura óptima oscila entre 20-30°C, a temperaturas menores de 15°C el ritmo de crecimiento es afectado, la temperatura óptima para reproducción es entre 26-29 °C. Los límites de tolerancia oscilan entre 37-42 °C.
- Oxígeno Disuelto: Soporta bajas concentraciones, aproximadamente 1 mg/l; lo valores óptimos oscilan en valores mayores a 2 ó 3 mg/l.
- pH: el pH óptimo entre 7 y 8. No pueden tolerar valores menores de 5, pero sí pueden resistir valores alcalinos de 11.
- Turbidez: Se deben mantener 30 centímetros de visibilidad.
- Altitud: 850 a 2000 m.s.n.m
- Luz o Luminosidad: periodos de luz mínimo de 8 horas.
- Alcalinidad y dureza total: Los rangos para piscicultura están aproximadamente entre 30 y 200 mg/l de CaCO₃.
- Dióxido de carbono (CO₂): La tilapia puede tolerar niveles hasta 20 ppm de CO₂, siempre y cuando los niveles de oxígeno no sean inferiores a 3 mg/l; niveles superiores provocan muerte del pez, ya que este gas se acumula en la sangre interfiriendo con la oxigenación de la hemoglobina.
- Amonio: El rango de tolerancia está entre 0,6 a 2,0 ppm. Los niveles de amonio pueden ser controlados con la adición de cal agrícola, cuyas dosis dependen del pH del agua.

- Nitritos y nitratos: Concentraciones mayores a 2 mg/L, se consideran tóxicos para los peces.
- Gases tóxicos: Sulfuro de hidrógeno <0,1 ppm, ácido cianhídrico <10 ppm y metano < 25 ppm.
- Cloro: Sus concentraciones no deben exceder de 0 003 mg/L.
- Metales pesados: Los principales metales pesados causantes de envenenamiento son: cobre, mercurio, zinc y hierro. La mayoría de ellos no deben sobrepasar los límites de 0.1 mg/L.
- Sólidos en suspensión: Los rangos óptimos se encuentra entre 25 y 100 mg/L, valores superiores disminuyen la cantidad oxígeno en el agua.

2.3.5 Ciclo de producción

2.3.5.1 Hábitos reproductivos

Según (López, 2011), la tilapia es una especie muy prolifera, se reproduce a edad temprana y pequeño tamaño. Se reproduce entre 20 - 25 °C, en regiones subtropicales la temperatura de reproducción se puede dar entre 20 – 23 °C. La madurez sexual se da a los 2 ó 3 meses, la luz influye en la reproducción, el aumento de la iluminación o disminución de 8 horas dificultan la reproducción. Tiene 7 etapas de desarrollo embrionario, el tamaño del huevo indica cuál será el tamaño a elegir para obtener el mejor tamaño de alevín (Figura 1).

A continuación se describe la secuencia de etapas características del comportamiento reproductivo de la tilapia en cautiverio:

- a. Después de 3 a 4 días de la siembra los reproductores se acostumbran a los alrededores.
- b. En el fondo del estanque el macho delimita y defiende su territorio, limpiando un área circular de 20 a 30 cm de diámetro en forma de nido y una profundidad de 5 a 8 cm.
- c. La hembra es atraída hacia el nido en donde es cortejada por el macho.
- d. La hembra deposita sus huevos en el nido para que inmediatamente después sean fertilizados por el macho.
- e. La hembra recoge a los huevos fertilizados con su boca y se aleja del nido. El macho continúa cuidando el nido y atrayendo otras hembras con que aparearse. Para completarse el cortejo y desove requieren de menos de un día.
- f. Antes de la eclosión los huevos son incubados de 3 a 5 días dentro de la boca de la hembra. Las hembras no se alimentan durante los períodos de incubación y cuidado de las larvas.
- g. Las larvas jóvenes (con saco vitelino) permanecen con su madre por un periodo adicional de 5 a 7 días, escondiéndose en su boca en situaciones de peligro.
- h. La hembra estará lista para aparearse de nuevo aproximadamente una semana después de que ella deja de cuidar a sus hijos. Los pececillos forman grupos o bancos una vez que dejan a sus madres. Bancos numerosos de pececillos se observan a los 13 - 18 días después de la siembra de los reproductores.

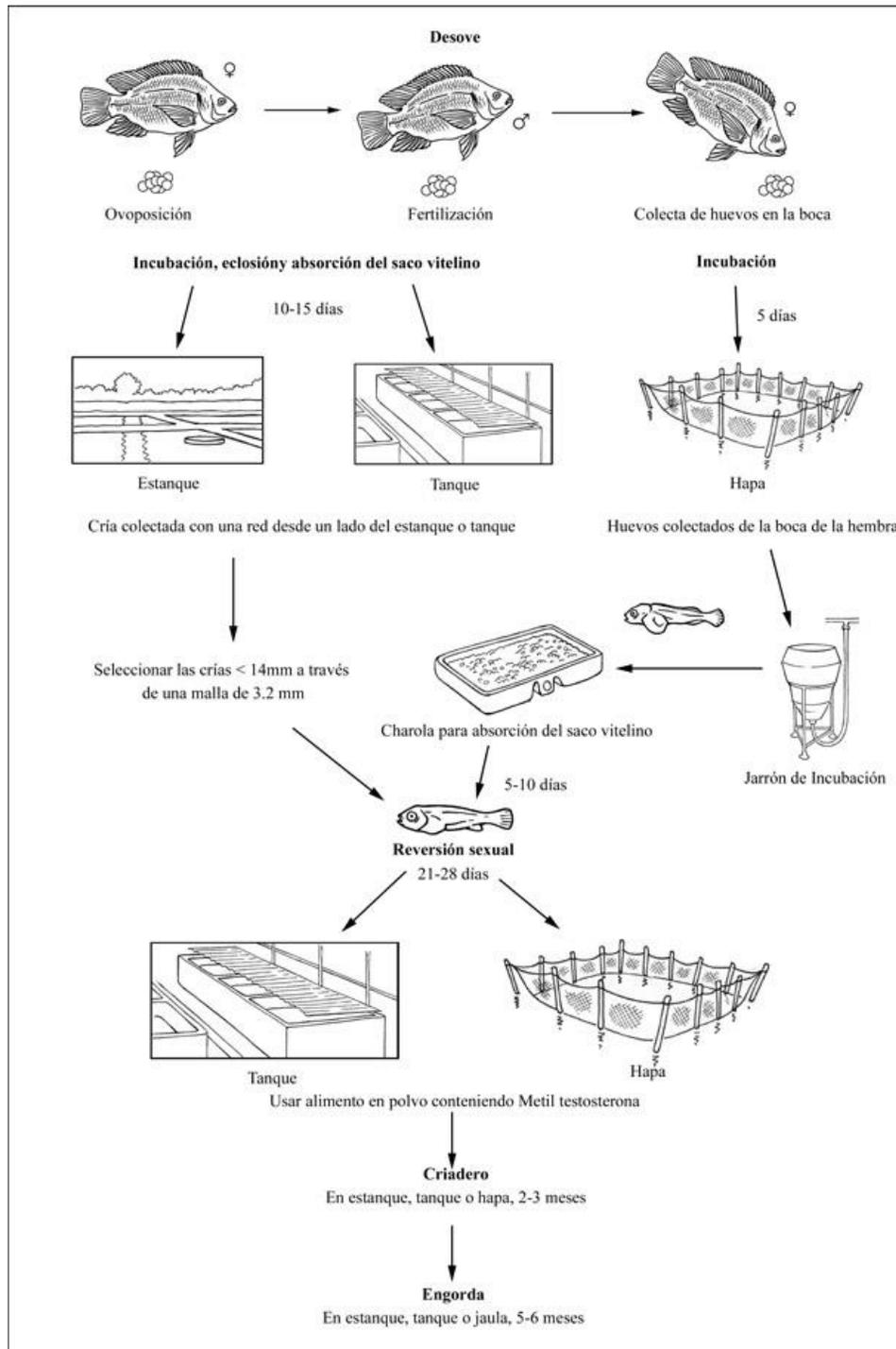


Figura 1 Ciclo de cultivo de la tilapia

Fuente: (FAO, 2016)

2.3.5.2 Desarrollo y etapas

El ciclo biológico y desarrollo de las tilapias inicia con el apareamiento de los reproductores, los diferentes estadios de tilapia son:

Huevo → alevín → cría → juvenil → adulto

El crecimiento en talla y peso aproximado se detallan en la tabla 1.

Tabla 1

Talla y peso de los diferentes estadios de desarrollo en tilapia

Estadio	Talla (cm)	Peso (g)	Tiempo (días)
Huevo	0,2 – 0,3	0,01	3 – 5
Alevín	0,7 – 1,0	0,10 – 0,12	10 -15
Cría	3 – 5	0,5 – 7,4	15 – 30
Juvenil	7 – 12	10 – 50	45 – 60
Adulto	10 - 18	70 – 100	70 – 90

Fuente: Arrendo y Cols (1994); citado por (Hurtado, 2002)

2.3.5.3 Alimentación

Los nutrientes requeridos por los peces para crecimiento, reproducción y otras funciones fisiológicas son semejantes a aquellos requeridos por las especies terrestres. Los peces necesitan consumir proteínas, minerales, vitaminas y fuentes energéticas (Pokniak, 1997).

En un ambiente natural, las tilapias se alimentan de una amplia variedad de ítems, desde plancton, organismos bentónicos, invertebrados de la columna de agua, larvas de peces, detritus, materia orgánica en descomposición, etc. Una de las grandes ventajas en relación a la alimentación de la tilapia es que se alimentan desde un nivel trófico inferior (Fitzsimmons, 2005).

A continuación se describen los requerimientos nutricionales de los grandes grupos de nutrientes.

Tabla 2
Requerimientos nutricionales de proteína, carbohidratos y lípidos para tilapia

	Estadío	Requerimiento (%)
Proteína	Alevín	45 – 60
	Juvenil	35 – 45
	Engorde	25 – 35
	Reproductor	25 – 35
Carbohidratos	Alevín	< 25
	Juvenil	< 25
	Engorde	25 – 30
Lípidos Totales	Alevín	5 – 8
	Adulto	8 – 10
Ω-6	Todos los estadíos	0,5 – 1
Ω-3	Todos los estadíos	0,5 – 1

Fuente: (Saavedra, 2006)

Tabla 3
Requerimientos óptimos de vitaminas y minerales para tilapia

Vitaminas esenciales	Requerimiento	Minerales esenciales	Requerimientos
A	2000 – 5000 UI	Calcio	0,3 – 0,7 %
B1	2 – 60 ppm	Fósforo	0,5 – 1 %
B2	5 – 60 ppm	Yodo	0,6 – 1.1 ppm
B6	2 – 20 ppm	Magnesio	0,5 – 0,8 ppt
C	50 – 1250 ppm	Zinc	20 – 30 ppm
D	375 UI	Hierro	< 17,05 ppm
E	100 – 500 UI	Cobre	< 1,27 ppm
		Cromo	2 ppm

Fuente: (Saavedra, 2006)

Para el cálculo de raciones alimenticias existen diferentes tablas de alimentación, siendo un ejemplo la siguiente:

Tabla 4
Ración alimenticia para tilapia

Tipo de alimento	Peso unidad (g)	Tasa alimenticia (%)	Dosis / día (g)	Tamaño (mm)	Proteína (%)
T inicial 1	<1	10 – 30	8 – 10	1,5	45
T inicial 2	1 – 20	4,5 – 10	6 – 8	2	45
T crecimiento 1	20 – 100	3 – 4,5	4 – 6	3	32
T crecimiento 2	100 – 200	2,5 – 3	3 – 4	4	32
T engorde	>200	1,5 – 2,5	2 – 3	5	28 – 18

Fuente: (Ortiz, 2006)

2.3.6 Enfermedades

Según (Conroy, 2015), las principales enfermedades reportadas en el cultivo de tilapia son:

2.3.6.1 Enfermedades bacterianas

- Septicemia hemorrágica bacteriana (SHB): Las tilapias afectadas por este síndrome muestran signos de oscurecimiento, exoftalmia, anorexia, y con áreas hemorrágicas o ulceradas en las bases de las aletas pectorales y ventrales, y en la región ocular. Las bacterias gram negativas causantes de la patología son: *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp., entre otras.
- Estreptococosis: Producida generalmente por *Streptococcus iniae*, enfermedad crónica caracterizada por la presencia de granulomas interesando al bazo, cerebro, hígado y riñón, exudado purulento en tejido muscular con encapsulamiento melanizado cerca de la línea lateral.
- Tuberculosis o micobacteriosis: Los agentes etiológicos son *Mycobacterium chelonae*, *M. fortuitum* y *M. marinum*; los peces afectados muestran pequeños granulomas focales en el hígado, bazo y riñón.
- La columnaris: Causada por *Flexibacter columnaris* en aguas dulces. La enfermedad se caracteriza clínicamente por la presencia de áreas de erosión o lesiones necróticas poco profundas, de color blanquecino-grisáceo a blanquecino-amarillento, localizadas a nivel de las aletas, cabeza y/o cuerpo, las branquias son afectadas con signos de palidez y necrosis.

2.3.6.2 Enfermedades micóticas

- Dermatomicosis: Se manifiesta por la presencia de lesiones de las aletas, boca y piel, las cuales son cubiertas por una masa de aspecto algodonoso y de un color blanquecino, blanquecino-grisáceo, o amarillento, que corresponde al micelio del hongo.

2.3.6.3 Enfermedades parasitarias

- Ciliados: Producida por *Ichthyophthirius multifiliis*, conocido como “ich” o “punto blanco”. El parásito provoca lesiones a nivel de la piel, branquias, faringe y narinas, y toda la superficie del cuerpo de los peces.
- Flagelados: Producida por *Ichthyobodo necator*, ataca principalmente en larvas de tilapias, sobre todo cuando la densidad poblacional de las mismas es excesiva, y cuando los peces están estresados. Generalmente, *I. necator* se encuentra en las branquias, los peces afectados muestran señales de debilitamiento, las aletas están plegadas, hay opacidad en la piel, las branquias se presentan hiperplásicas con abundante producción de moco.
- Monogéneos: Generalmente parásitos que tienen una acción exfoliatriz sobre la piel y las branquias de los peces mantenidos en aguas dulces o saladas. Estos parásitos se alimentan de mucus y epitelio de la superficie del cuerpo, causando lesiones externas que erosionan y exponen la dermis a infecciones por bacterias, virus y hongos, conduciendo a la muerte.
- Digenéos: Producida por *Diplostomum compactum*, este parásito provoca una condición conocida como “tremátode del ojo”, “catarata” o “ceguera parasitaria” en tilapias.
- Crustáceos: En el Perú y Ecuador se ha reportado una epizootias severas por el copépodo *Caligus* sp. en híbridos de tilapia cultivadas en agua salobre, ocasionando erosión y hemorragias en la superficie del cuerpo.

- Hirudineos: Se han observado fuertes infestaciones de sanguijuelas en tilapias rojas cultivadas a 17% de salinidad. Los peces adultos muestran los parásitos adheridos en la cavidad bucal y los alevines en la superficie del cuerpo.

2.4 Probióticos en acuicultura

2.4.1 Definición

Los aditivos o probióticos son sustancias o compuestos usados en la formulación de alimentos para animales, con el objeto de complementar las necesidades nutricionales para mejorar la producción animal, en particular actuando en la flora gastrointestinal o mejorando la digestibilidad de otros ingredientes (Wallace & Newbold, 1992).

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud y en la fisiología del hospedero. Una forma de actuar de los probióticos para lograr alcanzar un buen estado de salud del individuo, es a través de la resistencia otorgada contra la invasión de microorganismos patógenos, que se logra mediante la generación de sustancias antimicrobianas como ácido láctico y otros ácidos de cadena corta (Ruíz, 2007).

Según International Life Science Institute, Bruselas (ILSI), 1998, los probióticos son: "Microorganismos vivos que cuando son ingeridos en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud, lo que va más allá de los efectos nutricionales convencionales".

En acuicultura el término probiótico se define como un suplemento microbiano formado por un cultivo simple o una mezcla de microorganismos que son adicionados con el propósito de manipular las comunidades microbianas presentes en los sistemas de producción (Balcázar, 2002).

El efecto benéfico de los probióticos se atribuye en general a tres mecanismos diferentes (Verschuere, Heang, Criel, & Sogerloo, 2000) , que a su vez pueden deberse a varias causas: *Mejoramiento de la calidad del agua* (ya sea por metabolización de la materia orgánica o por interacción con algunas algas). *Exclusión competitiva de bacterias nocivas*; ya sea por: competencia por nutrientes, competencia por sitios de fijación en el intestino y aumento de la respuesta inmunológica del hospedero. *Y aportes benéficos al proceso digestivo del hospedero*; mediante: aporte de macro y micronutrientes para el hospedero o aporte de enzimas digestivas.

2.4.2 Situación actual

La creciente intensificación y comercialización en el cultivo de especies acuáticas a nivel nacional y local, es una causa para la aparición de enfermedades e infecciones que se convierten en un problema para el cultivo de muchas especies. La mayor tasa de mortalidad en acuicultura se debe a las infecciones bacterianas, estas enfermedades son una limitante en la producción piscícola, apareciendo a veces en forma esporádica o periódica, ya que pueden manifestarse en forma asintomática sin ocasionar daños visibles, o bien, desarrollar el cuadro clínico específico de una enfermedad afectando el pez, siguiendo un curso crónico, produciendo la muerte a los organismos (Rodríguez , Rodríguez , Monroy , & Mata , 2015).

La mayoría de infecciones en especies acuáticas son causadas por microorganismos de los géneros *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp., están implicadas en altas tasas de mortalidad especialmente de tilapia roja en el país (Rodríguez , Rodríguez , Monroy , & Mata , 2015).

La forma de controlar la presencia las patologías antes mencionadas es el uso de antibióticos y otros químicos, sin embargo, el uso constante de estos productos provoca en los organismos un desequilibrio en la microbiota gastrointestinal, aumentando el riesgo de contraer enfermedades y desarrollo de genes de resistencia antibiótica en

algunos microorganismos, transmitiéndose de forma horizontal a la descendencia (Zizhong, 2009).

En este sentido se han desarrollado varias propuestas para la prevención y el control de enfermedades, tales como vacunas, inmunoestimulantes y probióticos. La mayoría de los probióticos propuestos para el uso en acuicultura pertenecen a las bacteria ácido lácticas (*Lactobacillus* y *Carnobacterium*), a los géneros *Vibrio* (*V. alginolyticus*) y *Bacillus* y *Pseudomonas*, principalmente (Naranjo, Gutierrez, & RB, 2015).

2.4.3 Aplicación de probióticos en Acuicultura

Actualmente se utiliza probióticos a nivel de agua (fondos) y alimento. A nivel de agua, la aplicación es directa a la piscina, sea a nivel de columna de agua y/o fondos. A nivel de alimento, la inclusión en el alimento puede realizarse en campo y en fábrica de balanceado.

Tabla 5
Principales cepas probióticas utilizadas en acuicultura

Cepa probiótico	Usado en	Método de aplicación
<i>Streptococcus lactis</i> y <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Scophthalmus maximus</i>	Enriquecimiento de alimento vivo
<i>Lactobacillus</i> sp. y <i>Carnobacterium</i> sp.	<i>Scophthalmus maximus</i>	Enriquecimiento de rotíferos
<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Salmo salar</i> L.	Baño en suspensión
<i>Carnobacterium divergens</i>	Alevinos de Cod del Atlántico	Adición a la dieta
<i>Bacillus megaterium</i> , <i>subtilis</i> , <i>polymyxa</i>	<i>Ictalurus punctatus</i>	

CONTINÚA →

<i>Vibrio pelagius</i>	Turbot	Adición al agua
<i>G-Probiótico</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Oreochromis niloticus</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Adición a la dieta y agua
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Adición a la dieta
<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Vibrio fluvialis</i> , <i>Carnobacterium</i> sp., <i>Micrococcus luteus</i> <i>Bacillus circulans</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i> Carpa rohu	Adición a la dieta
<i>Streptococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>	
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>	Adición a la dieta
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Rhodopseudomonas palustris</i> y <i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Piaractus mesopotamicus</i> <i>Ctenopharyngodon idella</i>	Adición a la dieta

Fuente: (Naranjo, Gutierrez, & RB, 2015)

2.4.4 Mecanismo de acción

Los microorganismos probióticos producen metabolitos que generan antagonismo contra los patógenos, estimulan el sistema inmune, protegen la mucosa intestinal mejoran la calidad del agua y a su vez mejoran la alimentación de las especies de acogida a través de la producción de suplementos de enzimas digestivas favoreciendo la absorción de nutrientes en el tracto gastrointestinal (García , López , & Boucourt, 2015). Los principales efectos de los probióticos se describen a continuación:

2.4.4.1 Producción de componentes inhibitorios

Los probióticos juegan un papel importante en la prevención de enfermedades mediante la producción de ciertos compuestos inhibidores que actúan antagonicamente contra los microorganismos patógenos y, por tanto, evitan su proliferación en los hospederos (García , López , & Boucourt, 2015).

2.4.4.2 Competencia por los sitios de adhesión

Dentro de los mecanismos de acción de bacterias probióticas está la competencia por espacio para la adhesión y la colonización del tracto intestinal, esto genera una exclusión de microorganismos patógenos. Las estrategias en relación a la fijación de las bacterias en el intestino se dan por fuerzas pasivas, interacciones electrostáticas, fuerzas estéricas hidrófobas, ácidos proteicos, adhesinas y estructuras específicas de adhesión (Lara , Olvera, & Gizmám, 2002).

2.4.4.3 Modulación de la respuesta inmune

Los probióticos intervienen en la mejora del sistema inmune mediante la producción de anticuerpos, producción de enzimas y péptidos antimicrobianos. La estimulación del sistema inmunológico está dada por niveles altos de actividad de macrófagos y de anticuerpos, incrementando así la resistencia a patógenos, bacterias y hongos principalmente. (García , López , & Boucourt, 2015).

2.4.5 Producto comercial FreshPlus

FreshPlus es una mezcla sinérgica de bacterias no patógenas *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. a una concentración de $1,50 \times 10^9$ UFC/g para el uso en acuicultura de agua dulce intensiva y semi-intensiva.

2.4.5.1 *Bacillus* spp.

2.4.5.1.1 Taxonomía

Dominio: Bacteria
Filo: Firmicutes
Clase: Bacilli
Orden: Bacillales
Familia: Bacillaceae
Género: *Bacillus*

2.4.5.1.2 Generalidades

Las bacterias del género *Bacillus* se consideran gram positivas, anaerobios estrictos y anaerobios facultativos. Su morfología tiene forma de bastoncillo y están agrupadas en cadenas, presentan gran número de flagelos alrededor del cuerpo, aunque ciertas especies son inmóviles; en condiciones estresantes forman una endospora de situación central, esta forma esporulada es resistente a las altas temperaturas y a los desinfectantes químicos corrientes (Jawets, 1996). La mayoría de especies son catalasas positivas y saprófitas. Son bacterias no adherentes productoras de sustancias antimicrobianas, así como de enzimas hidrolasas (Guillot, 2000). Entre las especies de mayor importancia, como probióticos pertenecientes a este género, están *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* y *B. natto* (Bortolozzo & Kira, 2002).

Una característica relevante de *Bacillus* spp. es la producción de enzimas hidrolíticas como la proteasa, amilasa y glicosidasas que descomponen las complejas moléculas de los alimentos y las transforman en nutrientes más simples. Estos compuestos se absorben más rápidamente por el animal o pueden ser empleados por otras bacterias beneficiosas para el establecimiento de una microbiota intestinal balanceada. Por su parte, las endosporas estimulan el sistema inmune, contribuyen a la resistencia ante patógenos ambientales y actúan en la inmunología de los organismos (Anon, 1998).

2.4.5.1.3 Interés industrial

Muchas especies de *Bacillus* poseen la capacidad de secretar grandes cantidades de enzimas específicas de interés industrial. La bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* es considerada como fuente de proteínas antibióticas naturales como la barnasa cuya función es inhibir la actividad ribonucleasa, alfa amilasa utilizada en la hidrólisis del almidón, la proteasa subtilisina utilizada

con detergentes, y el BamH1 enzima de restricción utilizado en la investigación del ADN (Graumann, 2012).

La industria ha encontrado un aplicación específica en la incorporación de una porción del genoma de *Bacillus thuringiensis* en cultivos de maíz y algodón con el fin de reducir el uso de plaguicidas con reducción del impacto medioambiental (Alcaraz, 2010).

Dos especies de *Bacillus* se consideran de importancia médica: *B.anthraxis*, agente causante del ántrax, y *B.cereus*, que causa intoxicación alimentaria. Por otro lado *B. thuringiensis* se usa para control de plagas en cultivos. Algunas cepas ambientales y comerciales de *B.coagulans* pueden desempeñar un papel en el deterioro de los alimentos de productos muy ácidos, a base de tomate (Alcaraz, 2010).

Investigaciones referentes a *B. subtilis* se encuentran a la vanguardia de la biología molecular y de la citología, considerándolo como organismo modelo para la diferenciación, regulación de genes, proteínas, y eventos del ciclo celular en las bacterias (Graumann, 2012).

2.4.5.2 *Paracoccus* sp.

2.4.5.2.1 Taxonomía

Dominio: Bacteria
Filo: Proteobacteria
Clase: Alphaproteobacteria
Orden: Rhodobacterales
Familia: Rhodobacteraceae
Género: *Paracoccus*

2.4.5.2.2 Generalidades

Las bacterias del género *Paracoccus* se consideran gram-negativas, su morfología es cocoide y son bacterias no motiles. Anteriormente conocidas como *Micrococcus*, renombradas en 1969 como *Paracoccus*, con referencia a organismos modelo para el estudio de la desnitrificación y con interés en una variedad de aspectos de la fisiología microbiana (Copeland, 2001).

Los organismos crecen bien bajo condiciones aeróbicas, expresando una cadena respiratoria muy similar a la de la mitocondria eucariota. La evidencia del análisis 16S rRNA indica que el precursor evolutivo de *Paracoccus* es la mitocondria, lo que justifica el uso del este género como modelo para el sistema respiratorio mitocondrial, también ha sido ampliamente estudiado por su capacidad para crecer en compuestos de C1 como metanol y metilamina (Copeland, 2001).

2.4.5.2.3 Importancia industrial

Paracoccus es un género bioquímicamente versátil, con una amplia gama de diversas capacidades de degradación y posibles aplicaciones en biorremediación (Copeland, 2001). La especie *P. denitrificans* se está explotando como un organismo modelo para el estudio de transformaciones de compuestos de azufre poco caracterizadas, debido a su capacidad para utilizar compuestos de hidrógeno y azufre, como el tiosulfato., además de poseer la capacidad de oxidar amoníaco a nitrito durante el crecimiento en fuentes de energía orgánica (Uemoto & Saiki, 2000).

Se han aislado además cepas que utilizan tiocianato como fuente de energía, para la posible biorremediación de aguas residuales contaminadas con tiocianato de fábricas de hornos de coque. Se han descrito cepas que degradan halobenzoatos en condiciones de desnitrificación anaeróbica y que degradan sulfonatos en condiciones de crecimiento anaeróbico. Se han aislado varias cepas

que degrada una variedad de aminos metiladas en condiciones tanto aeróbicas como anaeróbicas (Kelly, 2006).

2.4.5.3 Beneficios del producto FreshPlus

- El uso regular incrementa el rendimiento y supervivencia de los organismos, y mejora FCA.
- Mantiene la calidad de agua y estabiliza el crecimiento de algas durante ciclos de producción.
- Reduce la acumulación de sulfuro de hidrógeno tóxico (Dosis tan bajas como 0.002 ppm son tóxicas para los peces) en condiciones aeróbicas como anaeróbicas.
- Trabaja en niveles bajos de oxígeno disuelto.
- Establece una flora bacteriana intestinal beneficiosa y protectora
- Las cepas del producto se multiplican rápidamente en el agua formando una barrera protectora contra patógenos oportunistas, reduciendo el riesgo de infecciones bacterianas.

2.4.5.4 Recomendaciones de uso para FreshPlus

Debe ser añadido directamente al estanque o a los alimentos ya que no requiere de activación antes de dosificarlo. Cuando se añade FreshPlus a los alimentos usar 1-10 g del producto para cada kg de balanceado, de acuerdo a la especie y estadio. Cuando se añade FreshPlus directamente al agua se considera en periodo de preengorde una dosis de 200 g/ha/semana y en estanques de engorde una dosis de 100 g/ha/semana.

2.4.5.5 Almacenaje y manejo de FreshPlus

Almacenar en un ambiente fresco y seco. Evitar la inhalación. Lavarse las manos minuciosamente con agua tibia y jabón después del contacto. Evitar el contacto con los ojos.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Ubicación del lugar de investigación

3.1.1 Ubicación Política

El Centro Piscícola Nanegal, se ubica en la subregión territorial del noroccidente de la provincia de Pichincha, cantón Quito, parroquia Nanegal, vía Nanegalito- Nanegal, desvío a Marianitas. El proyecto piscícola cuenta con una extensión de 1,5 ha. y pertenece al Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Pichincha.



Figura 2 Ubicación política de Nanegal

Fuente: GAD, Nanegal

3.1.2 Ubicación geográfica

El Centro Piscícola Nanegal se encuentra a una altitud de 1199 metros sobre el nivel de mar. Sus coordenadas UTM 17N 759 883, 0014722. Nanegal limita al norte con la Provincia de

Imbabura, al sur con la Parroquia Nono, al este con las parroquias de San José de Minas y Calacalí y al oeste con las parroquias de Gualea y Nanegalito.

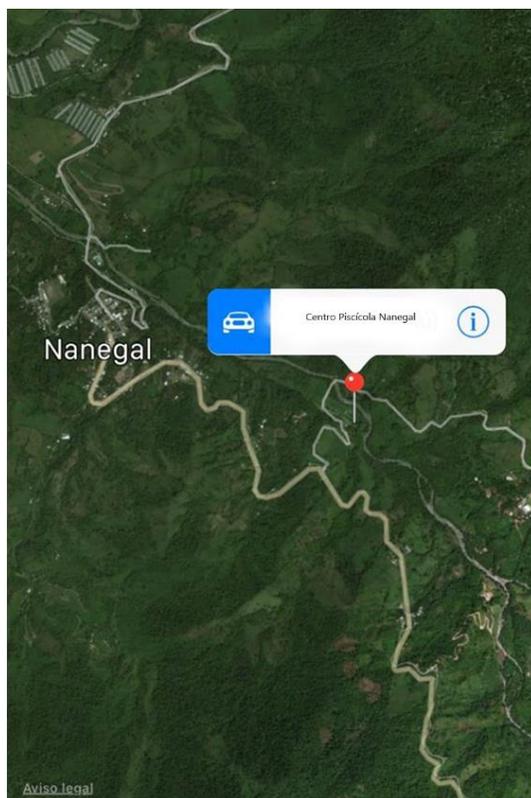


Figura 3 Ubicación geográfica del Centro Piscícola de Nanegal

Fuente: Google maps

3.1.3 Ubicación ecológica

Nanegal se encuentra en el piso altitudinal Montano Bajo y Pre Montano, región latitudinal Bosque Húmedo, en donde se encuentra las siguientes formaciones ecológicas: bosque húmedo montano bajo, bosque muy húmedo montano bajo y bosque muy húmedo pre – montano. El clima es cálido, la temperatura promedio los 28°C y como mínima los 12°C. El promedio de precipitación mensual es de 227,31 mm, el mes más lluvioso es abril con 77 mm de precipitación en 24 horas con humedad relativa del 86%.

La zona está compuesta por suelos alofánicos de origen volcánico sedimentarios poco materializados, con gran capacidad de retención de agua, de color negro, profundos y suelos arenosos sin limo.

3.2 Material experimental

3.2.1 Biológicos

- 144 tilapias con un peso promedio inicial de $42,64 \pm 0,68$ g.
- Probiótico a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. (FreshPlus)

3.2.2 Insumos de campo

- 12 jaulas con malla plástica de 1m^3 , con varilla de 8mm
- 2 canecas de 20 litros
- 2 tinas plásticas de 40 litros
- 1 regleta de medición para tilapia
- Redes de pesca
- Alimento balanceado PISCIS T-380

3.2.3 Equipos

- Balanza digital *ae Adam* ® máx. 600g d=0.1g
- Medidor multiparamétrico de calidad de agua HORIBA U-52
- Refrigerador *GE*
- Cámara de flujo laminar Airtech
- Cámara de incubación Memmert
- Microscopio binocular OLYMPUS
- Centrifuga marca ® Dynac

- Microcentrifuga Thermo EC
- Espectrofotómetro Thermo Spectronic
- Vortex Heidolph
- Agitador calentador Corning
- Autoclave vertical All American

3.2.4 Insumos laboratorio

- Cajas Petri de vidrio
- Cajas bi Petri plásticas
- Cajas tri Petri plásticas
- Tubos de ensayo
- Material quirúrgico (Pinzas, bisturí, tijeras)
- Porta y cubre objetos
- Gradillas
- Asas de platino
- Puntas para pipetas
- Lámpara de alcohol
- Papel Parafilm
- Tubos Eppendorf de 1ml y 2 ml
- Capilares para hematocrito
- Plastilina Brá-seal
- Jeringas de 5 mL
- Tabla de micro-hematocrito lote 01141

- Micro pipeta de 100 a 1000 μL
- Micro pipeta de 2 a 20 μL
- Micro pipeta de 20 a 200 μL

3.2.5 Reactivos

- Solución salina al 75%
- Caldo de cultivo TSA (Trypticase Soy Agar)
- Medio de cultivo PDA (Agar Papa Dextrosa)
- Medio de cultivo TSA (Trypticase Soy Agar)
- Medio de cultivo MK (MacConkey)
- Medio de cultivo MRS (Man, Rogosa y Sharpe)
- Medio de cultivo TSI (Triple Sugar Iron)
- Medio de cultivo MIO ((Movilidad, Indol y Ornitina)
- Medio de cultivo CITRATO (Simmons Citrate Agar)
- Medio de cultivo AGUA PEPTONADA
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
- Agua destilada
- Violeta de Genciana
- Solución de Lugol
- Alcohol cetona
- Safranina
- Cal agrícola (Carbonato de calcio)
- Azul de metileno

- Sal en grano
- Nitrodesinfect (Amonio cuaternario 20%).
- Gelatina sin sabor
- Eugenol 30 ml UPS. Keystone Industries
- Heparina sódica 500 UI/ml
- Kit de Hemoglobina Química Clínica Aplicada S.A. lote 130150
- Kit Human TOTAL PROTEIN liquicolor lote 14001
- Kit de Human ALBUMIN liquicolor lote 130150
- Kit de Human GLUCOSE liquicolor lote 14014

3.3 Métodos

3.3 1 Instalación del ensayo

Se seleccionó las piscinas adecuadas para la aplicación de tratamientos, se vació el estanque. Utilizando un rastrillo se removió la capa superficial hacia abajo para levantar el lodo inferior hacia arriba y efectuar la oxidación completa de la capa inferior del fango anaeróbico. Se desinfectó utilizando el producto químico Nitro-desinfect (Amonio cuaternario 20%), con una dosis de 1,5 g/L de agua, empleando una bomba de mochila se aplicó en las paredes y fondo del estanque, este producto funcionó como viricida, fungicida y bactericida. El encalado, se realizó con carbonato de calcio con una dosis de 80g /m², teniendo una acción antiparasitaria.

Se utilizó dos piscinas, en la piscina 1 (7 x 3 m) se colocó el testigo del ensayo y en la piscina 2 (14 x 6 m) se colocaron los tratamientos del ensayo, con las respectivas unidades experimentales y las dosificaciones del complejo probiótico *Bacillus spp.* y *Paracoccus sp.* (1.50 x 10⁹ UFC/g) posteriormente detalladas, tanto en la piscina 1 como en la piscina 2 se dispuso de

jaulas de 1 metro cúbico debidamente rotuladas, previamente lavadas y desinfectadas con el producto químico Nitro-desinfect, para poder ubicar los tratamientos y las repeticiones.

3.3.2 Siembra de organismos

Para evaluar el desempeño productivo de tilapia en etapa de crecimiento y engorde, se sembraron tilapias con un peso promedio inicial de $42,64 \pm 0,68$ g, se manejó una densidad de carga animal de 12 animales por metro cúbico.

3.3.3 Alimentación de los organismos

La alimentación se realizó de acuerdo a la Tabla 6, con la inclusión de las tres dosificaciones de un complejo probiótico a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. (1.50×10^9 UFC/g) FreshPlus con una frecuencia de tres veces al día. El alimento utilizado fue de la marca comercial Piscis Alimento de crecimiento T-380, extrusos 2 mm y Alimento de engorde T-320, extrusos de 4 mm.

Tabla 6
Ración alimenticia para tilapia

Tipo de alimento	Peso unidad (g)	Tasa alimenticia (%)	Dosis / día (g)	Tamaño (mm)	Proteína (%)
T inicial 1	<1	10 – 30	8 – 10	1,5	45
T inicial 2	1 – 20	4,5 – 10	6 – 8	2	45
T crecimiento 1	20 – 100	3 – 4,5	4 – 6	3	32
T crecimiento 2	100 – 200	2,5 – 3	3 – 4	4	32
T engorde	>200	1,5 – 2,5	2 – 3	5	28 – 18

Fuente: (Ortiz, 2006)

La adición del probiótico al balanceado se lo realizó de la siguiente manera:

- En un matraz se midió 100 ml de agua purificada.
- Se calentó el agua a 60 °C.
- Se disolvió 2 g de gelatina sin sabor en el agua previamente calentada.
- Se dejó enfriar la solución de gelatina (15 a 20°C).
- Se pesó 5 g, 10 g y 15 g de complejo probiótico FreshPlus

- Se pesó un kilo de alimento balanceado y se roció con la solución de gelatina.
- Se agregó el probiótico al alimento humedecido con la solución de gelatina.
- Se dejó secar y se enfundó.
- Se conservó en refrigeración a 4°C.

3.4 Diseño experimental

3.4.1 Factores

Sistema de Alimentación (T)

T1: Balanceado + 5g de complejo probiótico *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. (1.50×10^9 UFC/g)

T2: Balanceado +10g de complejo probiótico *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. (1.50×10^9 UFC/g)

T3: Balanceado +15g de complejo probiótico *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. (1.50×10^9 UFC/g)

T4: Balanceado + 0g de complejo probiótico *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. (1.50×10^9 UFC/g)

3.4.2 Tratamientos

Los tratamientos probados en el ensayo se detallan en la Tabla 7.

Tabla 7

Descripción de tratamientos

Tratamiento	Sistema de alimentación
T1	Balanceado + 5g de complejo probiótico <i>Bacillus</i> spp. y <i>Paracoccus</i> sp. (1.50×10^9 UFC/g)
T2	Balanceado + 10g de complejo probiótico <i>Bacillus</i> spp. y <i>Paracoccus</i> sp. (1.50×10^9 UFC/g)
T3	Balanceado + 15g de complejo probiótico <i>Bacillus</i> spp. y <i>Paracoccus</i> sp. (1.50×10^9 UFC/g)
T4	Balanceado + 0g de complejo probiótico <i>Bacillus</i> spp. y <i>Paracoccus</i> sp. (1.50×10^9 UFC/g) (Control)

3.4.3 Tipo de diseño

Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) unifactorial con 3 repeticiones y un testigo.

3.4.4 Características de las unidades experimentales

Se instalaron 12 unidades experimentales (UE), las cuales fueron jaulas de 1 metro cúbico de capacidad. En cada unidad experimental se dispuso una carga animal de 12 peces por metro cúbico, teniendo un total de 144 peces en el ensayo.

3.4.5 Croquis del diseño

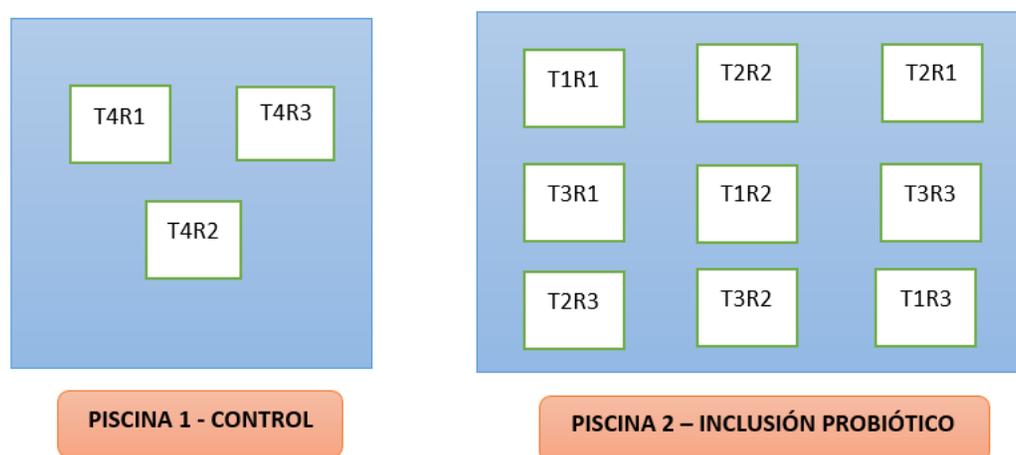


Figura 4 Croquis diseño experimental

3.5 Variables a medir

3.5.1 Variables de calidad de agua

Temperatura, pH, conductividad eléctrica, turbidez, total sólidos suspendidos y oxígeno disponible: estos valores se determinaron mediante el medidor multiparamétrico de calidad de agua HORIBA U-52 disponible en las instalaciones del Centro Piscícola Nanegal, cada 10 días.

NH₃, este valor se determinó mediante tabla de Emerson, 1975.

3.5.2 Variables métricas

3.5.2.1 Peso (g): esta variable se midió mediante la balanza electrónica de las instalaciones cada 10 días.

3.5.2.2 Talla (cm): largo y ancho, estos datos se midieron con la ayuda del tablero graduado para tilapia.

3.5.3 Parámetros Productivos

3.5.3.1 Ganancia de peso (g/d): se determinó el incremento de peso diario mediante la siguiente fórmula:

$$GP = \frac{Pf - Pi}{t}$$

Pf: peso final

Pi: peso inicial

t: tiempo

3.5.3.2 Tasa de crecimiento específico: para evaluar el crecimiento de los peces en función del peso final, peso inicial y días de crecimiento, se empleó la siguiente expresión:

$$TCE = \frac{(\ln Pf - \ln Pi)}{tF - ti} \times 100$$

ln: logaritmo natural

Pf: peso final

Pi: peso inicial

tf: tiempo final

ti: tiempo inicial

3.5.3.3 Factor de conversión alimenticia: para obtener que cantidad de alimento se necesita para producir un gramo de peso vivo, se aplicó la siguiente fórmula:

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

AB: Cantidad de alimento suministrado

GP: Ganancia de peso

3.5.3.4 Eficiencia alimenticia: para determinar la capacidad del individuo en convertir sus nutrientes, se utilizó la siguiente relación:

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

AB: Cantidad de alimento suministrado

GP: Ganancia de peso

3.5.3.5 Índice de condición corporal: para determinar indicar el estado de salud y nutritivo de los individuos, se utilizó la siguiente relación volumétrica en función del peso:

$$ICC = \frac{P}{(LT)^3} \times 100$$

P: peso

LT: longitud total

3.5.4 Variables hematológicas

El análisis de parámetros hematológicos se realizó a 3 individuos de cada unidad experimental.

3.5.4.1 Toma de muestra de sangre

La extracción de sangre (1 a 2 mL), se realizó por punción en la arteria caudal con ayuda de una jeringa de 5 mL, previamente tratada con heparina sódica 500 UI/mL, se colocó en un ángulo de 45° y tomando como referencia la línea media del pez, se introdujo la jeringa hasta topar la columna vertebral del pez entre las falsas costillas, por donde pasa la arteria dorsal, se mantuvo

un constante vacío en la jeringa que permitió el ascenso de la muestra de sangre, las 36 muestras fueron colocadas en tubos eppendorf de 1mL y 2 mL debidamente rotulados.

3.5.4.2 Hematocrito (Hcto)

El hematocrito es un análisis del volumen de glóbulos rojos con relación al total de la sangre, que permite detectar anemia y otros trastornos de la sangre. Se realizó el ascenso de 2 capilares por muestra de sangre, los capilares fueron sellados con plastilina Brá-seal y se colocaron en tubos de ensayo provistos de base de algodón debidamente rotulados. Los tubos se colocaron en una centrifuga marca ® Dynac a 3500 rpm durante 10 min.

Las lecturas se realizaron en una tabla de micro-hematocrito lote 01141 y se anotó el porcentaje de hematocrito analizado.

3.5.4.3 Hemoglobina (Hb)

La hemoglobina es la proteína presente en el torrente sanguíneo que permite el transporte de oxígeno desde el órgano respiratorio hacia las regiones y tejidos del cuerpo. La lectura de esta variable se realizó empleando el kit de Hemoglobina Química Clínica Aplicada S.A. lote 130150, colocando 2,5 mL del reactivo de Drabkin en cada tubo de ensayo con la ayuda de una micropipeta de 100 a 1000 μ L, se colocó además un blanco (el cual es solo el reactivo en un tubo de ensayo); empleando una micropipeta de 2 a 20 μ L, se colocó 10 μ L de la muestra de sangre de cada individuo. Esta solución fue agitada y se incubo 10 min a temperatura ambiente (20 a 25°C).

Se leyó los resultados de las muestras mediante el espectrofotómetro Thermo Spectronic a 546nm. El equipo fue previamente encerado con el blanco (reactivo) y se colocaron las celdas con muestras para proceder con la lectura de hemoglobina de las mismas.

Se aplicó la siguiente fórmula a los datos arrojados por el espectrofotómetro, reportando los datos de hemoglobina en unidades internacionales de g/dL.

$$\text{g Hb /dL} = \text{Con factor Abs muestra} \times 36,8$$

3.5.4.4 Glucosa (Gluc)

El análisis de glucosa mide la cantidad de azúcar en una muestra de sangre, se utiliza como prueba diagnóstica para detección de enfermedades. La lectura de glucosa se realizó mediante el kit de Human GLUCOSE liquicolor lote 14014 (Método GOD-PAP), se colocó 1 mL del reactivo en 38 tubos de ensayo debidamente rotulados, en uno de ellos se adicionó 10 µL del estándar y en los 36 se adicionó 10 µL de plasma sanguíneo de cada muestra. Las soluciones fueron agitadas e incubadas a 20 a 25°C por 5 minutos. Se leyeron las muestras mediante el espectrofotómetro Thermo Spectronic a 546 nm, previamente encerado con el blanco y calibrado con el estándar.

Se aplicó la siguiente fórmula a los datos arrojados por el espectrofotómetro, reportando los datos de glucosa en unidades internacionales de mg/dL.

$$\text{Gluc (mg/dL)} = 100 \times \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ STD}}$$

El plasma sanguíneo se obtuvo mediante la centrifugación de 2 mL de sangre a 5 600 rpm durante 10 minutos.

3.5.4.5 Proteína total (PT)

El análisis de proteína total mide la cantidad total de dos clases de proteínas encontradas en la porción líquida de sangre: albumina y globulina. La lectura de proteína total se realizó mediante el kit Human TOTAL PROTEIN liquicolor lote 14001, se colocó 1mL de reactivo (Método de Biuret), en 38 tubos de ensayo debidamente rotulados, empleando una micropipeta de 100 a 1000

μL , posteriormente se adicionó con la ayuda de una micropipeta de 2 a 20 μL , 20 μL del estándar STD en un tubo de ensayo con reactivo, en los 36 tubos se colocaron 20 μL del plasma de muestra de sangre. La muestra fue agitada e incubada por 15 minutos a 37°C. Se leyeron las muestras mediante el espectrofotómetro Thermo Spectronic a 546 nm, previamente encerado con el blanco y calibrado con el estándar.

Se aplicó la siguiente fórmula a los datos arrojados por el espectrofotómetro, reportando los datos de proteína total en unidades internacionales de g/L.

$$\text{PT (g/L)} = 80 \times \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ STD}}$$

El plasma sanguíneo se obtuvo mediante la centrifugación de 2 mL de sangre a 5 600 rpm durante 10 minutos.

3.5.4.6 Albúmina (Alb)

La albúmina se mide principalmente como indicativo de posibles problemas en el hígado o en los riñones, para diagnosticar déficits nutricionales o para investigar las causas de edemas. La lectura de albumina se realizó mediante el kit de Human ALBUMIN liquicolor lote 130150 (método BCG), se colocó 1 mL del reactivo en 38 tubos de ensayo debidamente rotulados, en uno de ellos se adicionó 10 μL del estándar y en los 36 se adicionó 10 μL de plasma sanguíneo de cada muestra. Las soluciones fueron agitadas e incubadas a 20 a 25°C por 5 minutos. Se leyeron las muestras mediante el espectrofotómetro Thermo Spectronic a 546nm, previamente encerado con el blanco y calibrado con el estándar.

Se aplicó la siguiente fórmula a los datos arrojados por el espectrofotómetro, reportando los datos de proteína total en unidades internacionales de g/L.

$$\text{Alb (g/L)} = 40 \times \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ STD}}$$

El plasma sanguíneo se obtuvo mediante la centrifugación de 2 mL de sangre a 5 600 rpm durante 10 minutos.

3.5.4.7 Globulina (Glob)

La concentración globulinas ofrece información de diagnóstico relevante sobre diversas enfermedades ya que son una parte importante del sistema inmunitario. Debido a que la proteína total representa la suma de albúmina y globulinas, para obtener los resultados se aplicó la siguiente fórmula, reportando los datos de glucosa en unidades internacionales de g/L.

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

3.5.5 Análisis microbiológicos a nivel intestinal

El análisis microbiológico a nivel intestinal se realizó 2 veces durante el experimento, el primero a los 100g de peso vivo y el segundo a los 135 g de peso vivo.

3.5.5.1 Toma de muestras

Se trasladaron 12 peces (uno por cada unidad experimental) de la zona de Nanegal a las instalaciones de laboratorio del IASA I, se preparó una solución de agua con Eugenol, se esperó 3 minutos hasta que los animales se adormecieran y se procedió a la extracción del intestino completo de manera aséptica, el intestino se colocó en cajas Petri previamente esterilizadas.

3.5.5.2 Siembra de microorganismos

Del intestino completo se obtuvo el contenido intestinal y segmentos representativos de intestino, los cuales se colocaron y homogenizaron en 5 mL de solución salina estéril al 0,85%. De este homogeneizado se tomaron alícuotas, se inocularon en tubos con caldo TSA y se incubaron por un período de 24 horas a 30°C.

Las muestras enriquecidas se sembraron en Medio de cultivo PDA (Agar Papa Dextrosa), Medio de cultivo TSA (Trypticase Soy Agar), Medio de cultivo MK (MacConkey) y Medio de cultivo MRS (Man, Rogosa y Sharpe), se incubaron nuevamente a la misma temperatura para la obtención de las bacterias en un periodo de 48 horas.

3.5.5.3 Identificación bacteriana

Se aislaron colonias de bacterias en los diferentes medios de cultivos antes mencionados. Para la identificación bacteriana de estas colonias se utilizaron las siguientes pruebas bioquímicas tradicionales.

Tabla 8
Pruebas bioquímicas para identificación bacteriana

Prueba	Resultado
Citrato	Utilización de citrato
Agua peptona	Reacción a indol
MIO	Motilidad
	Ornitina descarboxilasa
	Reacción a indol
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
Catalasa	Presencia de catalasa
Oxidasa	Presencia de oxidasa
Tinción	Gram positiva o negativa

Fuente: Manual de técnicas en microbiología analítica de Álvarez, Boquet y Fez (1990)

Los resultados fueron sometidos al análisis e identificación mediante el software ABIS online.

3.6 Análisis estadístico

Para el análisis de datos se utilizó el programa estadístico Infostat, en un diseño completamente al azar con tres tratamientos y un testigo con tres repeticiones (Tabla 9).

Tabla 9
Análisis de varianza para un DCA con 4 tratamientos y 3 repeticiones

Fuentes de variación	Grados de libertad
Niveles de inclusión de probiótico	3
Error experimental	8
Total	11

El modelo matemático para este arreglo se define a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + \delta_{k(i)} + T_j + (PT)_{ij} + e_{ijk}$$

y_{ij} : Desempeño productivo

μ : media general

τ_i : Efecto del tratamiento i-ésimo nivel de dosificación del complejo probiótico *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. (1.50×10^9 UFC/g).

$\delta_{k(i)}$ = Error para el tipo de suelo

E_j = Efecto de la j-ésima tiempo en días

$(SE)_{ij}$ = Efecto de la interacción Nivel de inclusión de probiótico \times Tiempo en días

e_{ijk} = Error para el tiempo en días

3.7 Análisis funcional

Las variables evaluadas se caracterizaron mediante estadística descriptiva (Media, desviación estándar). Para las variables peso, largo, ancho y ganancia de peso se realizaron diagramas de perfiles multivariados. Las variables peso, ancho, ganancia de peso, TCE, FCA (raíz cuadrada), EA, ICC fueron analizadas mediante análisis de varianza con modelos mixtos (probiótico y tiempo efectos fijos y repetición efecto aleatorio). Debido a que estas variables se observaron cada 10 días se realizó un análisis de medias repetidas en el tiempo. Las observaciones correlacionadas con el tiempo se modelaron utilizando la estructura de correlación autoregresión

orden 1. La homogeneidad de varianzas se modeló asignando varianzas independientes para los tratamientos y/o el tiempo. Por otro lado, las variables hemoglobina, glucosa (ln), proteína total, hematocrito, albumina y globulina fueron analizadas mediante modelos mixtos cuyo efecto fijo fue el tratamiento y las repeticiones su efecto aleatorio. La homocedasticidad para las variables hemoglobina, glucosa, proteína y globulinas, peso, ganancia de peso, TCE, FCA y EA se modeló mediante la función var. Ident y la normalidad se validó mediante la prueba de Shapiro wilks ($p < 0.05$). Las variables ICC, FCA, EA, albuminas y globulinas fueron modeladas mediante modelos ML. Para todos los análisis se realizaron pruebas de comparación de medias entre tratamientos y/o interacciones de DGC al 5 %.

Para determinar las relaciones entre variables ambientales y productivas se realizaron análisis de correlación de Pearson al 5%. Además, se realizaron análisis de conglomerados utilizando el método de la varianza mínima de Ward y análisis de componentes principales con los datos de todas las variables estandarizados para generar un Biplot de las dos primeras componentes principales. Adicionalmente se realizaron análisis de regresión no lineal logístico entre el peso y el tiempo para los niveles de inclusión de probiótico.

3.8 Análisis de indicadores financieros

El análisis económico se realizó basado en los trabajos de análisis financiero en piscicultura de García (1995), para lo cual se calculó por tratamiento: gastos de inversión, costos operativos y el flujo de caja con proyección a 5 años. Además para el cálculo de indicadores financieros se utilizó el software para evaluación de proyectos de inversión (Guerrero, 2014).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Variables ambientales

En la Tabla 10 se evidencia el comportamiento de las variables ambientales en las piscinas del tratamiento control y del tratamiento con adición de probiótico, en las cuales se evidencia aumentos de pH y elevación en la concentración de amoníaco en el tratamiento testigo durante el experimento (Figura 5).

Tabla 10
Variables ambientales medidas durante el ensayo

Tratamiento	Tiempo (días)	°C	pH	Ce	Turb	OD	ST	NH3
Tratamiento testigo	10	20,79	8,78	0,059	38,3	13,6	0,038	11,9
	20	24,44	7,52	0,056	7,7	14,29	0,036	1,65
	30	23,87	8,16	0,049	2,4	13,64	0,032	5,03
	40	23,74	8,59	0,049	1,5	14,3	0,032	14,4
	50	25,03	8,69	0,109	11,5	12,9	0,071	15,3
	60	25,1	8,1	0,048	7,5	14,74	0,045	5,38
	70	24,9	8,1	0,056	6,5	13,2	0,032	5,38
	80	24,7	7,91	0,047	7,2	15,1	0,036	5,03
	100	24,9	7,81	0,057	4,8	14,21	0,046	1,77
Tratamiento con probiótico	10	22,31	8,43	0,228	35,9	13,2	0,148	4,39
	20	22,69	6,59	0,231	14,7	13,45	0,15	4,57
	30	25,1	7,74	0,111	1,8	15,32	0,072	1,77
	40	25,41	7,71	0,11	1,8	14,74	0,072	1,77
	50	24,22	7,77	0,063	4,1	17,14	0,014	1,65
	60	24,66	7,71	0,12	1,9	15,02	0,025	1,77
	70	25,1	7,68	0,078	3,2	16,2	0,036	1,77
	80	24,9	7,63	0,081	2,5	15,1	0,026	1,77
	100	24,7	7,21	0,081	1,9	15,2	0,026	1,65

°C: temperatura, Ce: conductividad eléctrica (mS/cm), Turb: turbidez (NTU), OD: oxígeno disuelto (mg/L), ST: sólidos totales (g/L)

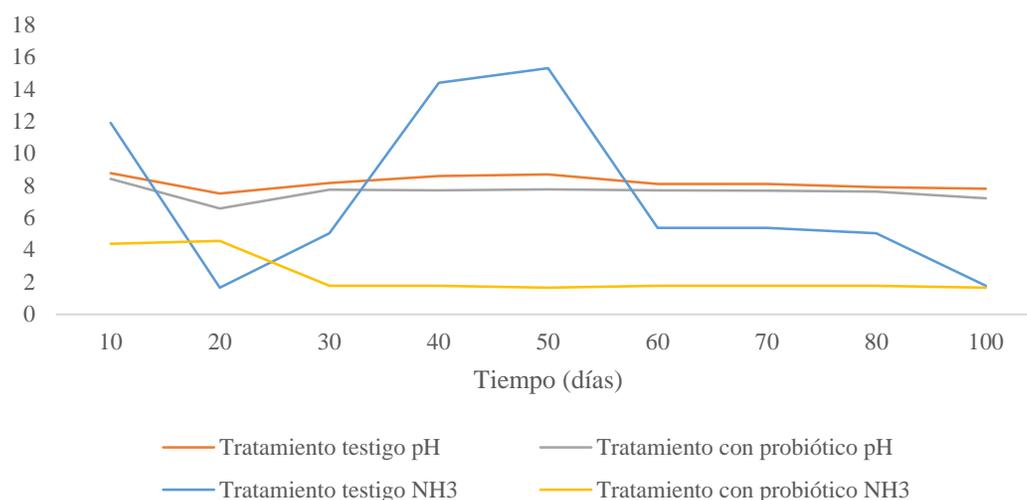


Figura 5 Comportamiento del pH y concentración de amoníaco durante ensayo

4.1.2 Variables métricas

4.1.2.1 Peso, largo total y ancho total

El análisis de varianza para el peso, largo total y ancho total, mostró un efecto significativo para la interacción tratamiento×tiempo ($F_{3, 8} = 10,81$; $p < 0,0001$), ($F_{3, 8} = 4,08$; $p < 0,0001$) y ($F_{3, 8} = 1,91$; $p = 0,0192$) respectivamente. Los animales con inclusión en dieta de probiótico mostraron mayor promedio en peso y ancho total que los animales del tratamiento testigo al día 100 del período experimental (Tabla 11, Figura 6 y 8). El mayor promedio para el largo total se obtuvo con la inclusión de 5g de probiótico en dieta al día 100 del ensayo (Tabla 11, Figura 7).

Tabla 11

Promedio ± desviación estándar del peso corporal, largo total y ancho total de Oreochromis sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico

Tiempo (días)	Niveles Prob.	PC	LT	AT
0	0g	43,53 ± 0,33j	13,00 ± 0,14l	3,74 ± 0,12h
	5g	42,59 ± 0,61j	13,12 ± 0,12l	3,80 ± 0,14h
	10g	41,86 ± 0,43j	13,00 ± 0,40l	3,60 ± 0,27h
	15g	42,59 ± 0,29j	12,81 ± 0,17l	3,62 ± 0,13h

CONTINÚA →

Tiempo (días)	Niveles Prob.	PC	LT	AT
10	0g	44,87 ± 0,32i	13,16 ± 0,14k	3,74 ± 0,11g
	5g	45,29 ± 0,12i	13,56 ± 0,15j	4,07 ± 0,15f
	10g	44,84 ± 0,37i	13,01 ± 0,40k	3,62 ± 0,30g
	15g	44,78 ± 0,52i	12,91 ± 0,17k	3,62 ± 0,12g
20	0g	49,34 ± 2,03h	13,67 ± 0,43j	4,21 ± 0,40f
	5g	49,99 ± 1,36h	13,88 ± 0,42j	4,48 ± 0,17f
	10g	49,55 ± 2,54h	14,02 ± 0,51j	4,43 ± 0,40f
	15g	47,91 ± 1,18h	13,73 ± 0,23j	4,20 ± 0,20f
30	0g	62,09 ± 3,11g	14,84 ± 0,25i	4,88 ± 0,11e
	5g	67,62 ± 0,91g	15,39 ± 0,27h	5,29 ± 0,13d
	10g	64,17 ± 6,96g	14,60 ± 1,02i	4,93 ± 0,20e
	15g	64,11 ± 4,16g	15,05 ± 0,02i	4,97 ± 0,07e
40	0g	67,37 ± 2,83g	15,60 ± 0,31h	5,07 ± 0,05e
	5g	78,87 ± 3,85f	16,55 ± 0,16f	5,48 ± 0,08d
	10g	76,39 ± 6,08f	16,31 ± 0,64f	5,30 ± 0,28d
	15g	76,85 ± 3,21f	16,09 ± 0,13g	5,24 ± 0,09d
50	0g	68,89 ± 2,69g	15,64 ± 0,35h	5,08 ± 0,07e
	5g	90,97 ± 0,15e	17,38 ± 0,28e	5,88 ± 0,22c
	10g	87,78 ± 8,60e	16,84 ± 0,55f	5,55 ± 0,27d
	15g	88,21 ± 7,31e	16,82 ± 0,23f	5,51 ± 0,23d
60	0g	79,20 ± 1,61f	16,53 ± 0,22f	5,31 ± 0,13d
	5g	103,42 ± 2,0d	18,81 ± 0,29d	6,15 ± 0,05c
	10g	96,26 ± 6,15e	17,91 ± 0,67e	6,08 ± 0,29c
	15g	99,77 ± 3,22d	17,85 ± 0,07e	5,93 ± 0,09c
70	0g	94,14 ± 3,59e	16,88 ± 0,06f	5,47 ± 0,13d
	5g	122,03 ± 0,73b	19,04 ± 0,13d	6,25 ± 0,06c
	10g	110,99 ± 4,92c	18,42 ± 0,60d	6,07 ± 0,13c
	15g	117,75 ± 5,09b	18,66 ± 0,13d	6,13 ± 0,03c
80	0g	105,34 ± 2,12d	17,98 ± 0,50e	5,85 ± 0,15c
	5g	130,50 ± 2,31b	19,66 ± 0,14c	6,44 ± 0,06c
	10g	120,70 ± 9,79b	19,05 ± 0,62d	6,22 ± 0,30b
	15g	129,16 ± 3,16a	19,21 ± 0,09d	6,38 ± 0,18b
100	0g	126,71 ± 8,03b	19,19 ± 0,33d	6,45 ± 0,16b
	5g	154,73 ± 4,22a	21,16 ± 0,21a	6,85 ± 0,08a
	10g	141,72 ± 10,61a	20,34 ± 0,64b	6,74 ± 0,06a
	15g	154,35 ± 6,70a	20,57 ± 0,11b	6,74 ± 0,45a

Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes (DCG; $p < 0,05$). PC= Peso corporal (g), LT = Largo total (cm), AT = Ancho total (cm)

Se encontró las siguientes regresiones no lineales ($p < 0,05$), para el peso corporal a través del tiempo para los diferentes niveles de inclusión de probiótico en dieta:

$$0g \quad \text{Peso corporal (g)} = \frac{201,11}{(1 + 4,75^{(-0,03 \times \text{Tiempo})})}$$

$$5g \quad \text{Peso corporal (g)} = \frac{184,93}{(1 + 4,20^{(-0,03 \times \text{Tiempo})})}$$

$$10g \quad \text{Peso corporal (g)} = \frac{214,79}{(1 + 5,25^{(-0,03 \times \text{Tiempo})})}$$

$$15g \quad \text{Peso corporal (g)} = \frac{530,24}{(1 + 12,28^{(-0,01 \times \text{Tiempo})})}$$

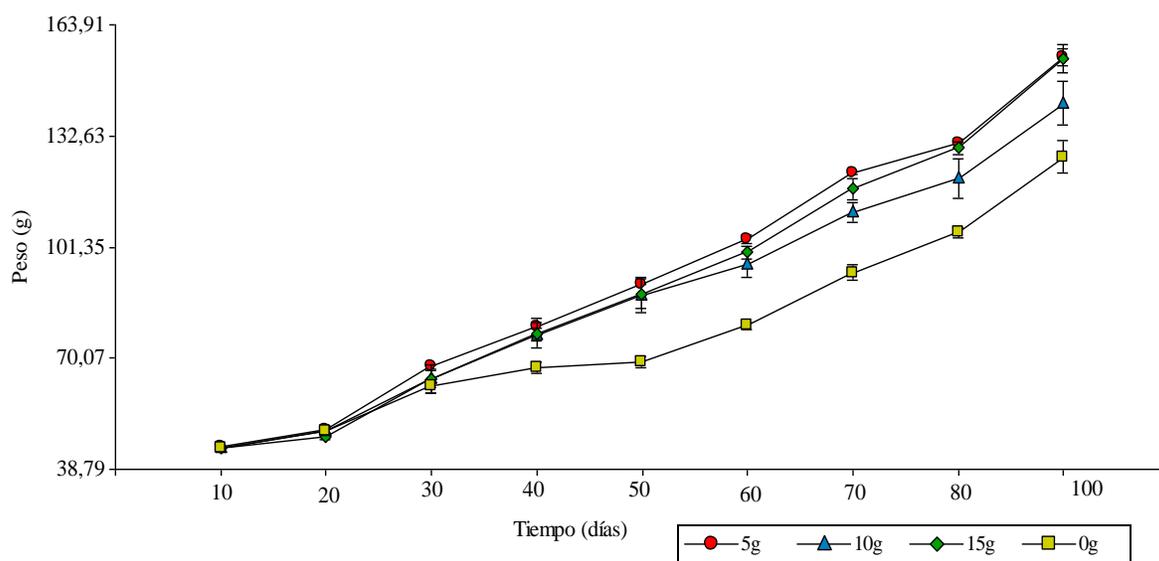


Figura 6 Promedio \pm error estándar del peso corporal (g) a través del tiempo

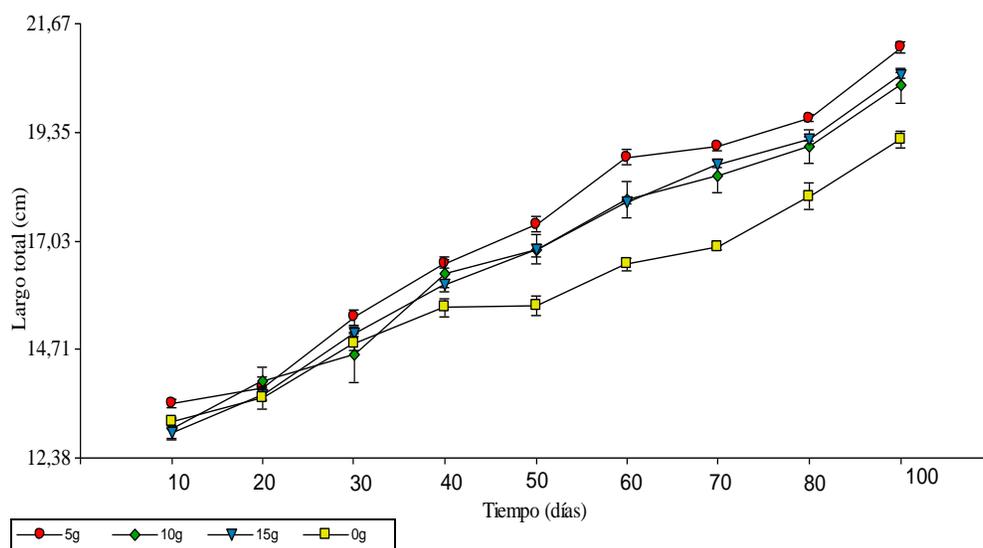


Figura 7 Promedio \pm error estándar del largo total (cm) a través del tiempo

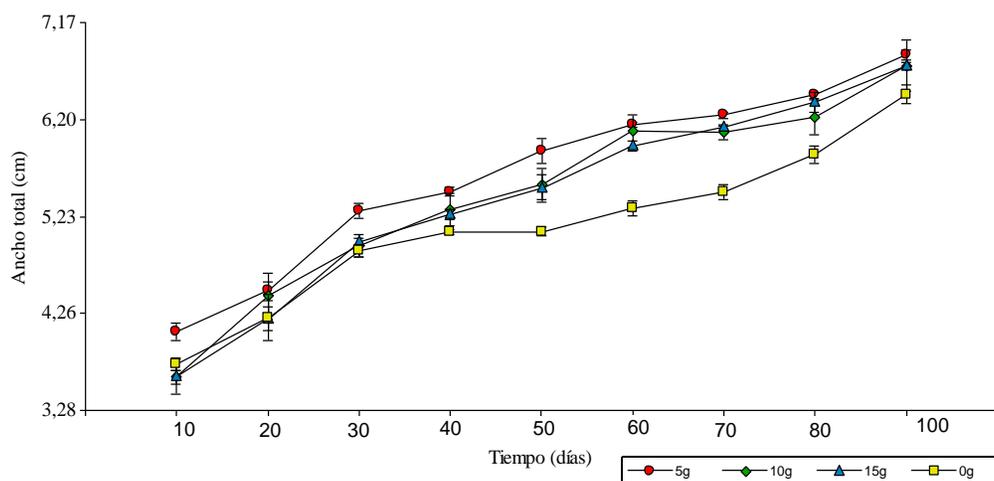


Figura 8 Promedio \pm error estándar del ancho total (cm) a través del tiempo

4.1.3 Parámetros productivos

4.1.3.1 Ganancia de peso e índice de condición corporal

El análisis de varianza mostró un efecto significativo en la interacción tratamiento \times tiempo para la ganancia de peso ($F_{3,8} = 2,02$; $p = 0,0123$) e índice de condición corporal ($F_{3,8} = 2,35$; $p = 0,0031$). Los animales con inclusión en dieta de probiótico mostraron mayor ganancia de peso que los animales del tratamiento testigo al día 40 y 50 del período experimental (Tabla 12, Figura

9). Los animales con 0 g y 15 g de inclusión en dieta de probiótico mostraron mejor índice de condición corporal que el resto al día 100 del ensayo (Tabla 12).

Tabla 12

Promedio ± desviación estándar de ganancia de peso e índice de condición corporal de Oreochromis sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico

Tiempo (días)	Niveles prob.	GP	ICC
10	0g	0,13 ± 0,06b	1,97 ± 0,08a
	5g	0,27 ± 0,05b	1,82 ± 0,06b
	10g	0,30 ± 0,01b	2,04 ± 0,19a
	15g	0,22 ± 0,07b	2,08 ± 0,09a
20	0g	0,45 ± 0,18b	1,94 ± 0,11a
	5g	0,47 ± 0,15b	1,87 ± 0,12b
	10g	0,47 ± 0,29b	1,80 ± 0,11b
	15g	0,31 ± 0,15b	1,85 ± 0,06b
30	0g	1,27 ± 0,49a	1,90 ± 0,0b
	5g	1,76 ± 0,05a	1,86 ± 0,12b
	10g	1,46 ± 0,46a	2,07 ± 0,22a
	15g	1,62 ± 0,53a	1,88 ± 0,11b
40	0g	0,53 ± 0,14b	1,78 ± 0,05b
	5g	1,13 ± 0,37a	1,74 ± 0,11b
	10g	1,22 ± 0,14a	1,76 ± 0,07b
	15g	1,27 ± 0,12a	1,84 ± 0,03b
50	0g	0,15 ± 0,04b	1,80 ± 0,05b
	5g	1,21 ± 0,39a	1,74 ± 0,09b
	10g	1,14 ± 0,27a	1,83 ± 0,02b
	15g	1,14 ± 0,43a	1,85 ± 0,13b
60	0g	1,03 ± 0,13a	1,75 ± 0,04b
	5g	1,25 ± 0,19a	1,56 ± 0,09c
	10g	0,85 ± 0,25a	1,68 ± 0,08c
	15g	1,16 ± 0,50a	1,75 ± 0,05b
70	0g	1,49 ± 0,20a	1,96 ± 0,09a
	5g	1,86 ± 0,27a	1,77 ± 0,03b
	10g	1,47 ± 0,18a	1,78 ± 0,10b
	15g	1,80 ± 0,32a	1,81 ± 0,12b
80	0g	1,12 ± 0,15a	1,81 ± 0,11b
	5g	0,85 ± 0,30a	1,72 ± 0,07b
	10g	0,97 ± 0,50a	1,74 ± 0,03b
	15g	1,14 ± 0,27a	1,82 ± 0,06b
100	0g	1,07 ± 0,31a	1,79 ± 0,05b
	5g	1,21 ± 0,17a	1,63 ± 0,09c
	10g	1,05 ± 0,04a	1,68 ± 0,06c
	15g	1,26 ± 0,26a	1,77 ± 0,05b

Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes (DCG; $p < 0,05$). GP = Ganancia de peso (g/día), ICC = Índice de condición corporal (%/día)

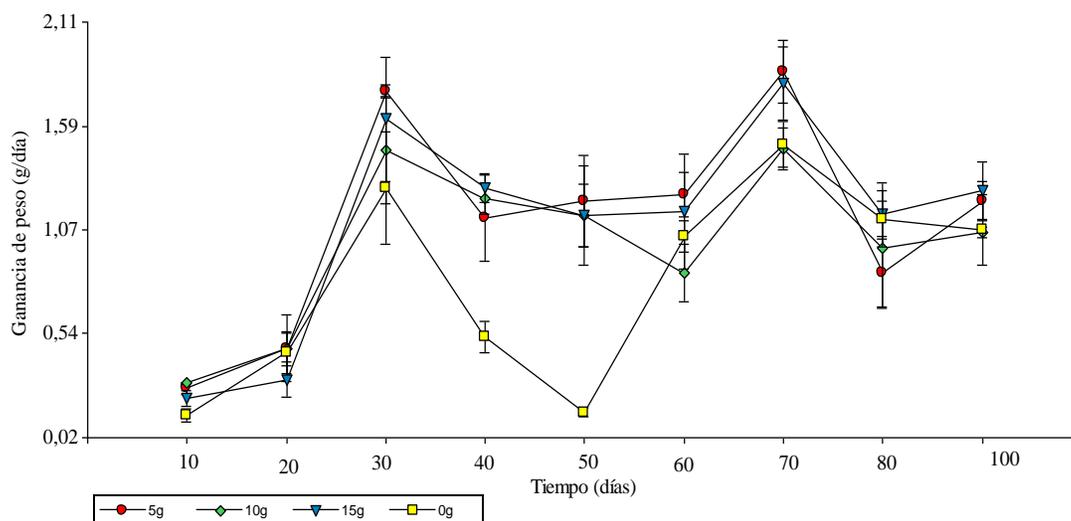


Figura 9 Promedio \pm error estándar de la ganancia de peso (g/día) a través del tiempo

4.1.3.2 Tasa de crecimiento específico, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia

El análisis de varianza para la tasa de conversión alimenticia, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia, mostró un efecto significativo para la interacción tratamiento \times tiempo ($F_{3, 8} = 4,03$; $p < 0,0001$), ($F_{3, 8} = 9,67$; $p < 0,0001$) y ($F_{3, 8} = 3,03$; $p < 0,0002$) respectivamente. Al día 30 del periodo experimental se reporta la mejor tasa de crecimiento específico para todos los animales. El mayor factor de conversión alimenticia se reporta al día 10 y 20 para todos los animales del experimento, esta variable reporta también valores mayores al día 40 y 50 del ensayo en los animales del tratamiento testigo. La mejor eficiencia alimenticia durante el ensayo se reporta al día 70 para todos los animales (Tabla 13).

Tabla 13

Promedio ± desviación estándar de tasa de crecimiento específico, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia de Oreochromis sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico

Tiempo (días)	Niveles prob.	TCE	FCA	EA
10	0g	0,30 ± 0,14d	>5 a	0,04 ± 0,02d
	5g	0,62 ± 0,13c	>5 b	0,09 ± 0,02c
	10g	0,69 ± 0,02c	>5 b	0,10 ± 0,00c
	15g	0,50 ± 0,15d	>5 b	0,07 ± 0,02d
20	0g	0,94 ± 0,36c	>5 b	0,15 ± 0,06c
	5g	0,98 ± 0,30c	>5 b	0,16 ± 0,05c
	10g	0,99 ± 0,58c	>5 b	0,16 ± 0,10c
	15g	0,67 ± 0,32c	>5 b	0,10 ± 0,05c
30	0g	2,29 ± 0,86a	2,58 ± 0,89c	0,42 ± 0,16b
	5g	3,02 ± 0,14a	1,70 ± 0,05d	0,59 ± 0,02a
	10g	2,56 ± 0,61a	2,19 ± 0,67d	0,49 ± 0,15a
	15g	2,90 ± 0,89a	2,00 ± 0,66d	0,54 ± 0,18a
40	0g	0,82 ± 0,23c	>5 b	0,18 ± 0,05c
	5g	1,53 ± 0,46b	2,84 ± 0,79c	0,37 ± 0,12b
	10g	1,76 ± 0,32b	2,47 ± 0,26c	0,41 ± 0,05b
	15g	1,82 ± 0,26b	2,37 ± 0,22c	0,42 ± 0,04b
50	0g	0,22 ± 0,06d	>5 a	0,05 ± 0,01b
	5g	1,43 ± 0,49b	2,71 ± 1,04c	0,40 ± 0,13b
	10g	1,38 ± 0,22b	2,74 ± 0,65c	0,38 ± 0,09b
	15g	1,36 ± 0,45b	2,98 ± 1,35c	0,38 ± 0,14b
60	0g	1,40 ± 0,22b	2,94 ± 0,37c	0,34 ± 0,04b
	5g	1,28 ± 0,18b	2,44 ± 0,35c	0,41 ± 0,06b
	10g	0,94 ± 0,34c	3,78 ± 1,26c	0,28 ± 0,08b
	15g	1,25 ± 0,60b	2,90 ± 1,06c	0,39 ± 0,17b
70	0g	1,72 ± 0,18b	2,03 ± 0,25d	0,50 ± 0,07a
	5g	1,66 ± 0,25b	1,64 ± 0,26d	0,62 ± 0,09a
	10g	1,43 ± 0,23b	2,06 ± 0,25d	0,49 ± 0,06a
	15g	1,65 ± 0,26b	1,71 ± 0,32d	0,60 ± 0,11a
80	0g	1,13 ± 0,18b	2,71 ± 0,39c	0,37 ± 0,05b
	5g	0,67 ± 0,23c	3,82 ± 1,19c	0,28 ± 0,10b
	10g	0,82 ± 0,37c	3,58 ± 1,43c	0,32 ± 0,17b
	15g	0,93 ± 0,25c	2,72 ± 0,61c	0,38 ± 0,09b
100	0g	0,92 ± 0,23c	2,97 ± 0,86c	0,36 ± 0,10b
	5g	0,85 ± 0,11c	2,51 ± 0,36c	0,40 ± 0,06b
	10g	0,80 ± 0,03c	2,86 ± 0,12c	0,35 ± 0,01b
	15g	0,89 ± 0,16c	2,45 ± 0,51c	0,42 ± 0,09b

Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes ($p < 0,05$), 5% según DCG. TCE= Tasa de crecimiento específico (%/día), FCA= Factor de conversión alimenticia, EA= Eficiencia alimenticia

4.1.4 Relaciones entre variables ambientales y productivas

La ganancia de peso y eficiencia alimenticia en los animales con inclusión en dieta de probiótico se correlacionaron positivamente con la temperatura ($r = 0,89$; $p = 0,0013$), ($r = 0,89$; $p = 0,0013$), oxígeno disuelto ($r = 0,77$; $p = 0,02$), ($r = 0,77$; $p = 0,02$) y de manera negativa con la cantidad de amoníaco ($r = -0,85$; $p = 0,0033$) ($r = -0,85$; $p = 0,0035$) respectivamente. El factor de conversión alimenticia se correlacionó negativamente con la temperatura ($r = -0,95$; $p = 0,000081$), oxígeno disuelto ($r = -0,8$; $p = 0,01$) y de manera positiva con la cantidad de amoníaco ($r = 0,95$; $p = 0,000081$) (Tabla 14).

Tabla 14

Coefficientes de correlación de Pearson para las variables ambientales y productivas con inclusión en dieta de probiótico

	TCE	FCA	EA	°C	pH	Ce	Turb	OD	ST	NH ₃
GP	0,73*	-0,92**	1**	0,89*	ns	-0,82*	-0,8*	0,77*	-0,71*	-0,85**
TCE		ns	0,73*	ns	ns	ns	ns	Ns	ns	ns
FCA			-0,92**	-0,95**	ns	0,92**	0,96**	-0,8*	0,86**	0,95**
EA				0,89**	ns	-0,82*	-0,8*	0,77*	-0,7*	-0,85**
°C					ns	-0,86**	-0,89**	Ns	-0,78*	-0,94**
pH						ns	ns	Ns	ns	ns
Ce							0,82*	-0,89**	0,95**	0,96**
Turb								-0,69*	0,79*	0,86**
OD									-0,85**	-0,81*
ST										0,93**

GP= Ganancia de peso (g/día), TCE= tasa de crecimiento específico (%/día), FCA= Factor de conversión alimenticia, EA= Eficiencia alimenticia, °C = Temperatura, Ce= Conductividad eléctrica (mS/cm), Turb = Turbidez (NTU), OD= Oxígeno disuelto (mg/L), ST= Sólidos totales (g/L), NH₃= Amoniaco (%).

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ns= no significativo

El factor de conversión alimenticia se correlacionó positivamente con el pH ($r = 0,69$; $p = 0,04$), turbidez ($r = 0,83$; $p = 0,01$) y con la cantidad de amoníaco ($r = 0,67$; $p = 0,05$). El pH se correlaciona positivamente con la cantidad de amoníaco ($r = 0,93$; $p = 0,00023$) (Tabla 15).

Tabla 15

Coefficientes de correlación de Pearson para las variables ambientales y productivas sin inclusión en dieta de probiótico

	TCE	FCA	EA	°C	pH	Ce	Turb	OD	ST	NH ₃
GP	0,86**	-0,86**	1**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
TCE		-0,77*	0,86**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
FCA			-0,86**	ns	0,69*	ns	0,83*	ns	ns	0,67*
EA				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
°C					ns	ns	-0,82*	ns	ns	ns
pH						ns	ns	ns	ns	0,93**
Ce							ns	0,67*	0,9**	ns
Turb								ns	ns	ns
OD									ns	ns
ST										ns

GP= Ganancia de peso (g/día), TCE= tasa de crecimiento específico (%/día), FCA= Factor de conversión alimenticia, EA= Eficiencia alimenticia, °C = Temperatura, Ce= Conductividad eléctrica (mS/cm), Turb = Turbidez (NTU), OD= Oxígeno disuelto (mg/L), ST= Sólidos totales (g/L), NH₃= Amoníaco (%).

*p < 005, **p < 001, ns= no significativo

El análisis de conglomerados mostró que la primera componente principal explico el 100 % de la variabilidad de los datos. Mediante una representación gráfica de datos multivariantes (Biplot), se puede observar una estrecha relación entre la variable productiva factor de conversión alimenticia y las variables ambientales pH y cantidad de amoníaco (%) en el tratamiento testigo, la turbidez por otra parte no mostró efectos en las variables productivas (Figura 10).

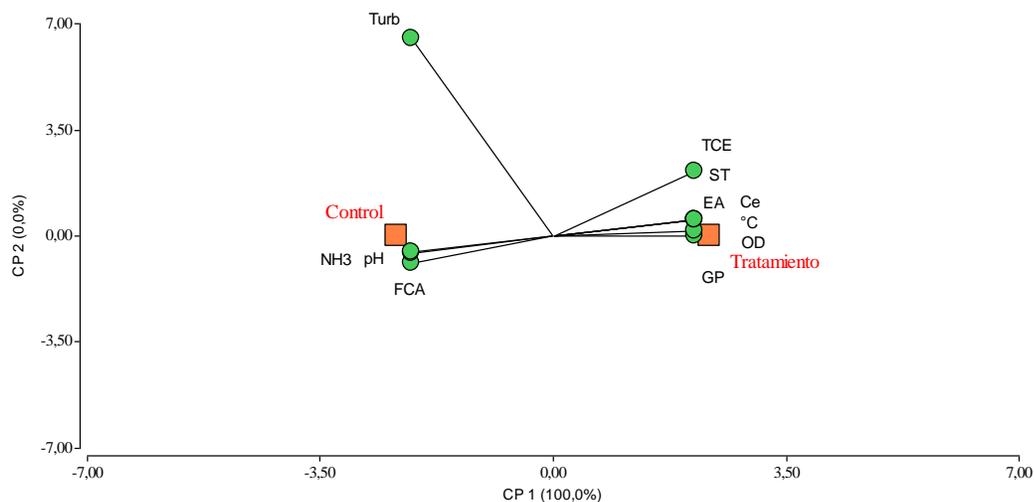


Figura 10 Biplot: Relaciones entre variables ambientales y productivas

4.1.5 Variables hematológicas

4.1.5.1 Glucosa, Hemoglobina y Hematocrito

El análisis de varianza mostró un efecto significativo entre tratamientos para las variables glucosa ($F_{3, 8} = 5,12$; $p = 0,0431$) y hemoglobina ($F_{3, 8} = 4,77$; $p = 0,0498$). La variable hematocrito no mostró un efecto significativo entre tratamientos ($F_{3, 8} = 0,28$; $p = 0,8379$). Los animales con inclusión en dieta de probiótico presentaron mayor concentración de glucosa plasmática que los animales del tratamiento testigo al día 100 del período experimental. Los animales alimentados con 10g de inclusión de probiótico en dieta presentaron menor concentración de hemoglobina en sangre que el resto de animales, al día 100 del período experimental. (Tabla 16).

Tabla 16

Promedio \pm desviación estándar de glucosa, hemoglobina y hematocrito de Oreochromis sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico

Niveles prob.	Gluc	Hb	Hcto
0g	78,97 \pm 19,19b	18,53 \pm 4,07a	28,94 \pm 10,82a
5g	95,24 \pm 29,30a	15,46 \pm 3,06a	27,78 \pm 2,36a
10g	93,77 \pm 26,24a	11,59 \pm 2,43b	30,64 \pm 10,89a
15g	117,29 \pm 41,26a	18,02 \pm 1,94a	32,50 \pm 5,53a

Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes (DCG; $p < 0,05$). Gluc= Glucosa (mg/dL), Hb= Hemoglobina (g/dL), Hcto= Hematocrito (%)

4.1.5.2 Proteína total, Albúmina y Globulina

El análisis de varianza para la variable proteína total, no mostró un efecto significativo entre tratamientos ($F_{3, 8} = 1,80$; $p = 0,2477$). Las variables albúmina y globulina mostraron un efecto significativo entre tratamientos ($F_{3, 8} = 5,91$; $p = 0,0318$) y ($F_{3, 8} = 4,11$; $p = 0,0667$). Los animales alimentados con los niveles de inclusión de probiótico de 0, 5 y 15 g en dieta presentaron mayor concentración de albúmina que los animales alimentados con inclusión de

probiótico de 10 g en dieta, al día 100 del período experimental. Los animales con inclusión 5g de probiótico en dieta presentaron menor concentración de globulina que el resto de animales al día 100 del período experimental (Tabla 17).

Tabla 17

Promedio ± desviación estándar de proteína total, albúmina y globulina de Oreochromis sp. suplementada en dieta con tres niveles de probiótico

Niveles prob.	PT	Alb	Gb
0g	2,70 ± 0,21a	1,12 ± 0,33a	1,57 ± 0,39b
5g	2,40 ± 0,27a	1,28 ± 0,38a	1,12 ± 0,12a
10g	2,27 ± 0,29a	0,81 ± 0,04b	1,45 ± 0,26b
15g	2,66 ± 0,43a	1,15 ± 0,19a	1,51 ± 0,48b

Medias en columna con letra común no son significativamente diferentes (DCG; $p < 0,05$). PT= Proteína total (g/dL), Alb= Albúmina (g/dL), Gb= Globulina (g/dL)

4.1.6 Análisis microbiológicos a nivel intestinal

Se identificó bacterias existentes en el tracto digestivo de las animales según el medio de cultivo en el cual se evidenció crecimiento. En el medio MRS se presenta mayor cantidad de bacterias del género Bacillus y Lactobacillus en muestras de tracto digestivo de animales con suplemento de probiótico en su dieta. En los medios PDA y TSA, se evidenció mayor crecimiento de bacterias patógenas en los animales sin inclusión de probiótico en dieta (Raoultella, Morganella y Edwarsiella) (Tabla 18).

Tabla 18
Géneros bacterianos prevalentes del tracto digestivo de Oreochromis sp. identificadas en medios selectivos

	MRS	MK	PDA	TSA
Con probiótico	Bacillus (99%)	Citrobacter (87%)	Yersinia (92%)	Proteus (98%)
	Paracoccus (98%)	Enterobacter (99%)	Plesiomonas (99%)	
	Lactobacillus (94%)	Peudomonas (99%)		
	Paenibacillus (87%)			
Sin probiótico	Lactobacillus (94%)	Citrobacter (87%)	Yersinia (92%)	Proteus (98%)
		Enterobacter (99%)	Raoultella (99%)	Morganella (97%)
		Peudomonas (99%)	Plesiomonas (99%)	Raoultella (91%)
				Edwardsiella (93%)

4.1.7 Análisis económico

La Tabla 19 presenta la inversión necesaria para implementar una piscina para el cultivo de tilapia híbrida en un área de 80 m². En la infraestructura se consideró: el terrero, revestimiento de cemento, tuberías, drenajes y toma de agua. En los equipos se incluyó un blower, claseador, bomba de agua, redes de pesca, balanza, y medidor multi paramétrico.

Tabla 19
Inversiones para el proyecto

Descripción	Precio (\$)	Depreciación (\$)
Infraestructura	664	21,33
Equipos	245	20,50

Los costos operativos fueron estimados por tratamiento (Tabla 20, 21, 22,23) para la producción de un año con dos ciclos de cultivo, considerando que se emplearía 0,3 horas hombre

para las tareas de alimentación, limpieza y desinfección. El cálculo de costos de alimentación se realizó de acuerdo al factor de conversión alimenticia obtenido en el estudio, evaluando el consumo de alimento balanceado por tratamiento. Para el costo de aditivos se calculó el nivel de inclusión de probiótico con relación al consumo final de alimento balanceado. Para la proyección a 5 años, se consideró el incremento de 1 animal por m² cada año, obteniendo la máxima capacidad de carga para una piscina de 80m² (10 animales por m²) al año 5.

Tabla 20

Costos operativos para el tratamiento testigo proyectados a 5 años

Años	1	2	3	4	5
Descripción	Costos variables (\$)				
Alevines	57,6	67,2	76,8	86,4	96
Alimentación	1015,2	1184,4	1353,6	1522,8	1692
Aditivos	0	0	0	0	0
Reposición de agua	12	12	12	12	12
Mano de obra	180	180	180	180	180
Total Costos Variables	1264,8	1443,6	1622,4	1801,2	1980
Descripción	Costos fijos (\$)				
Luz	5	5	5	5	5
Teléfono	5	5	5	5	5
Sanidad	20	20	20	20	20
Total Costos Fijos	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Total Costos Operativos	1294,80	1473,60	1652,40	1831,20	2010,00

Tabla 21

Costos operativos para el tratamiento con 5g de inclusión de probiótico en dieta proyectados a 5 años

Años	1	2	3	4	5
Descripción	Costos variables (\$)				
Alevines	57,6	67,2	76,8	86,4	96
Alimentación	842,4	982,8	1123,2	1263,6	1404
Aditivos	23,4	27,3	31,2	35,1	39
Reposición de agua	12	12	12	12	12
Mano de obra	180	180	180	180	180
Total Costos Variables	1115,4	1269,3	1423,2	1577,1	1731
Descripción	Costos fijos (\$)				
Luz	5	5	5	5	5
Teléfono	5	5	5	5	5
Sanidad	20	20	20	20	20
Total Costos Fijos	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Total Costos Operativos	1145,40	1299,30	1453,20	1607,10	1761,00

Tabla 22
Costos operativos para el tratamiento con 10g de inclusión de probiótico en dieta proyectados a 5 años

Años	1	2	3	4	5
Descripción	Costos variables (\$)				
Alevines	57,6	67,2	76,8	86,4	96
Alimentación	946,08	1103,76	1261,44	1419,12	1576,8
Aditivos	52,56	61,32	70,08	78,84	87,6
Reposición de agua	12	12	12	12	12
Mano de obra	180	180	180	180	180
Total Costos Variables	1248,24	1424,28	1600,32	1776,36	1952,4
Descripción	Costos fijos (\$)				
Luz	5	5	5	5	5
Teléfono	5	5	5	5	5
Sanidad	20	20	20	20	20
Total Costos Fijos	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Total Costos Operativos	1278,24	1454,28	1630,32	1806,36	1982,40

Tabla 23
Costos operativos para el tratamiento con 15g de inclusión de probiótico en dieta proyectados a 5 años

Años	1	2	3	4	5
Descripción	Costos variables (\$)				
Alevines	57,6	67,2	76,8	86,4	96
Alimentación	864	1008	1152	1296	1440
Aditivos	72	84	96	108	120
Reposición de agua	12	12	12	12	12
Mano de obra	180	180	180	180	180
Total Costos Variables	1185,6	1351,2	1516,8	1682,4	1848
Descripción	Costos fijos (\$)				
Luz	5	5	5	5	5
Teléfono	5	5	5	5	5
Sanidad	20	20	20	20	20
Total Costos Fijos	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Total Costos Operativos	1215,60	1381,20	1546,80	1712,40	1878,00

La Tabla 24 muestra los ingresos anuales obtenidos como resultado de la venta de peces faenados, cosechados a un peso comercial de 250 g para el mercado interno.

Tabla 24
Ingresos anuales percibidos en el proyecto

Año	# Peces	Peso comercial (g)	P.V.P (\$)	Ciclos	\$ Ingreso
1	480	250	6,5	2	1560
2	560	250	6,5	2	1820
3	640	250	6,5	2	2080
4	720	250	6,5	2	2340
5	800	250	6,5	2	2600

Para el flujo de caja se consideró en los ingresos anuales un incremento anual del 3% en el precio de tilapia y para los costos operaciones deducibles una tasa de inflación anual de 2,5%. (Tabla 25, 26, 27 y 28).

Tabla 25
Flujo de caja para el tratamiento testigo

	Años	0	1	2	3	4	5
+	Ingresos anuales		1560	1866,8	2134,6	2402,4	2670,2
-	Costos operativos		1294,80	1505,97	1689,24	1872,51	2055,78
-	Depreciación		41,83	41,83	41,83	41,83	41,83
=	Utilidad antes P. Trabajadores		223,37	319,00	403,53	488,06	572,59
-	15% Utilidad P. Trabajadores		33,50	47,84	60,52	73,20	85,89
=	Utilidad Antes I. renta		189,86	271,15	343,00	414,85	486,70
-	22% Utilidad I. Renta		41,77	59,65	75,46	91,27	107,07
=	Utilidad neta		148,09	211,49	267,54	323,58	379,62
-	Inversión	-909					
+	Depreciación		41,83	41,83	41,83	41,83	41,83
=	Flujo de fondos del proyecto	-909	189,93	253,33	309,37	365,41	421,46

Tabla 26*Flujo de caja para el tratamiento con 5g de inclusión de probiótico en dieta*

	Años	0	1	2	3	4	5
+	Ingresos anuales		1560	1866,8	2134,6	2402,4	2670,2
-	Costos operativos		1145,40	1327,94	1485,68	1643,43	1801,18
-	Depreciación		41,83	41,83	41,83	41,83	41,83
=	Utilidad antes P. Trabajadores		372,77	497,03	607,08	717,14	827,19
-	15% Utilidad P. Trabajadores		55,92	74,55	91,06	107,57	124,08
=	Utilidad Antes I. renta		316,85	422,48	516,02	609,57	703,11
-	22% Utilidad I. Renta		69,71	92,94	113,52	134,10	154,68
=	Utilidad neta		247,14	329,53	402,50	475,46	548,43
-	Inversión	-909					
+	Depreciación		41,83	41,83	41,83	41,83	41,83
=	Flujo de fondos del proyecto	-909	288,98	371,37	444,33	517,29	590,26

Tabla 27*Flujo de caja para el tratamiento con 10g de inclusión de probiótico en dieta*

	Años	0	1	2	3	4	5
+	Ingresos anuales		1560	1866,8	2134,6	2402,4	2670,2
-	Costos operativos		1278,24	1486,24	1666,68	1847,12	2027,56
-	Depreciación		41,83	41,83	41,83	41,83	41,83
=	Utilidad antes P. Trabajadores		239,93	338,73	426,09	513,45	600,81
-	15% Utilidad P. Trabajadores		35,99	50,81	63,91	77,02	90,12
=	Utilidad Antes I. renta		203,94	287,92	362,18	436,43	510,69
-	22% Utilidad I. Renta		44,87	63,34	79,68	96,01	112,35
=	Utilidad neta		159,07	224,58	282,50	340,42	398,34
-	Inversión	-909					
+	Depreciación		41,83	41,83	41,83	41,83	41,83
=	Flujo de fondos del proyecto	-909	200,90	266,41	324,33	382,25	440,17

Tabla 28*Flujo de caja para el tratamiento con 15g de inclusión de probiótico en dieta*

	Años	0	1	2	3	4	5
+	Ingresos anuales		1560	1866,8	2134,6	2402,4	2670,2
-	Costos operativos		1215,60	1411,59	1581,33	1751,07	1920,81
-	Depreciación		41,83	41,83	41,83	41,83	41,83
=	Utilidad antes P. Trabajadores		302,57	413,38	511,44	609,50	707,56
-	15% Utilidad P. Trabajadores		45,39	62,01	76,72	91,42	106,13
=	Utilidad Antes I. renta		257,18	351,37	434,72	518,07	601,42
-	22% Utilidad I. Renta		56,58	77,30	95,64	113,98	132,31
=	Utilidad neta		200,60	274,07	339,08	404,10	469,11
-	Inversión	-909					
+	Depreciación		41,83	41,83	41,83	41,83	41,83
=	Flujo de fondos del proyecto	-909	242,44	315,90	380,92	445,93	510,94

Para el cálculo de indicadores financieros se consideró una tasa de descuento del 11,5% (2,5% inflación y un 9% para posibles préstamos bancarios). Los mejores indicadores presentó el tratamiento con 5g de inclusión de probiótico en dieta, reportando un VAN, TIR y ROE (año 1) mejores que el resto de tratamientos, un beneficio-costo mayor en \$0,52 y un tiempo de recuperación de inversión menor en 1,17 años en comparación al tratamiento testigo (Tabla 29).

Tabla 29
Indicadores financieros por nivel de inclusión de probiótico en dieta

Indicador Financiero	0g	5g	10g	15g
VAN	169,26	646,62	222,17	422,32
TIR	17,79	33,75	19,67	26,51
B/C	1,19	1,71	1,24	1,46
TRI	4,42 años	3,25 años	4,25 años	3,67 años
ROE	16,29%	27,19%	17,50%	22,07%

4.2 Discusión

4.2.1 Parámetros métricos y productivos

La inclusión del complejo probiótico a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en dietas balanceadas de *Oreochromis* sp. evidenció un incremento en 17,91% de peso corporal, 9,32% en largo total y 5,83% en ancho total en relación al tratamiento testigo al término del ensayo. Según (Brown, y otros, 1996) y (Ringo, Bendisken, Gausen, Sundsfjord, & Olsen, 1998) las bacterias probióticas producen metabolitos, ácidos grasos de cadena corta y lípidos que contribuyen al incremento de procesos fisiológicos del organismo, mejorando el aporte nutricional de algunas especies acuáticas cultivadas. Por otra parte, la producción de enzimas por parte de las bacterias con capacidad probiótica como: lipasas, amilasas quitinasas, glicosidasas y proteasas, pueden contribuir al proceso digestivo de los organismos, acelerando procesos metabólicos como la

glúcolis, proteólisis y lipólisis, además de intervenir en el anabolismo y catabolismo de nutrientes orgánicos (Liu, Chiu, Ho, & Wang, 2009).

Los resultados del presente estudio son similares a los reportados por (Suzer, y otros, 2008), en los cuales se muestra que la inclusión de *B. subtilis* en la alimentación de tilapia, elevó la producción de bacteriocina, manteniendo una microbiota intestinal estabilizada, disminuyendo microorganismos patógenos e incrementando la población de *Lactobacillus* sp., obteniendo como resultado un incremento significativo del 9,85% en la tasa de crecimiento específico y la ganancia de peso de los animales. La actividad antibacteriana y la producción de α -amilasa por parte de *B. amyloliquefaciens* en el tracto digestivo de tilapia del Nilo, mejoró el crecimiento, el factor de conversión alimenticia y parámetros inmunológicos según lo reportado por (Telli, y otros, 2014).

En la investigación realizada por (Aly, Mohamed, & John, 2008) se indica que la inclusión de dos dosis de *B. pumilus* (106 y 1012 g) y el producto comercial Organic Green™ (1 y 2 g) en la dieta de tilapia del Nilo mejoró en un 25,45% la tasa de supervivencia y en 12,98% la tasa de crecimiento. Según datos reportados por (Aly, Abdel-Galil, Abdel-Aziz, & Mohamed, 2008), la tasa de supervivencia y el peso corporal de tilapia del Nilo aumentó después de la alimentación con probiótico a base de *B. subtilis* y *L. acidophilus* debido a la elevación de la respuesta inmune de los peces, como lo indican su actividad fagocítica y los niveles de anión superóxido. Según (Chiu & Liu, 2014), la incorporación del biomaterial Glycogen™ en dietas de tilapia roja de agua de mar, demostró un incremento del 22% en aumento de peso y mejoró la tasa de crecimiento específico y el factor de conversión alimenticia debido a su actividad inmunomoduladora, estos datos son similares a los obtenidos en la presente investigación.

Al día 40 y 50 del periodo experimental, las variables productivas como la ganancia de peso, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia presentaron valores no favorables para la

especie en el tratamiento testigo debido a condiciones medio ambientales adversas, no así en los animales de los tratamientos con inclusión de probiótico, los cuales mantuvieron sustancialmente valores constantes en estos parámetros.

El aumento de pH y la elevación en la concentración de NH_3 en el agua afectaron las variables productivas, lo indicado concuerda con estudios realizados por (Thorarensen & Farrell, 2011) quienes demostraron que la exposición a niveles altos de NH_3 provoca quemaduras químicas en los diferentes tejidos del pez, aumento del pH sanguíneo ocasionado alteraciones osmoregulatorias y disminución en la cantidad de oxígeno disponible en el agua, esto desencadena en los animales efectos inmediatos como la: inapetencia, reducción del performance natatorio, aumento de respiración branquial, movimientos erráticos y rápidos, convulsiones y pérdida de equilibrio; así como el incremento en la tasa metabólica, reducción en la tasa de crecimiento, disminución de resistencia a enfermedades y fecundidad.

Las variables productivas de los tratamientos con inclusión del probiótico no se vieron afectados por variables ambientales (pH y NH_3), esto puede atribuirse a la inclusión de *Paracoccus sp.* quien según lo reportado por (Schlegel & Bowien, 1989), es una bacteria desnitrificante facultativa que puede oxidar H_2 anaeróbicamente, lo que permite controlar concentraciones adecuadas de NH_3 dentro del sistema de cultivo.

4.2.2 Parámetros hematológicos

Los parámetros hematológicos evaluados en este estudio, mostraron variaciones entre tratamientos. La concentración de glucosa plasmática en los animales con inclusión en dieta de 0 g, 5g y 10 g de probiótico se mantuvieron dentro de los parámetros normales (22,7-107 mg/dL) (Rodríguez, y otros, 2016). La inclusión de 15 g de probiótico generó un valor de glucosa de 117,29 mg/dL, dicho valor se encuentra fuera de los parámetros normales, esto puede deberse a

que las bacterias probióticas desencadena un aumento en la acción de enzima clave en la degradación del glucógeno (glucógeno fosforilasa). Lo anterior coincide con lo estudiado por (Freitas, y otros, 2003) quienes demostraron que algunas bacterias probióticas, son capaces de incrementar específicamente la galactosilación y la glucólisis, así como el incremento en la expresión de galactosa, ácido siálico y N-acetil glucosamina (derivado de glucosa).

Por otra parte, la concentración de glucosa plasmática es utilizada como uno de los principales indicadores de estrés en los peces. En situaciones estresantes los niveles de insulina disminuyen, los niveles de glucagón, epinefrina, hormona de crecimiento y cortisol se elevan, provocando que los tejidos del cuerpo sean menos sensibles a la insulina desencadenando la liberación de glucosa desde el hígado al torrente sanguíneo como se informó por (Vijayan, Ballantyne, & Leatherland, 1997).

La concentración de hemoglobina en los animales con inclusión en dieta de 5 y 10 g de probiótico se mantuvo dentro de los rangos normales, valores que concuerdan con los propuestos por (Travares-Díaz & Faustino, 2005) (5,4-12,7 g/dl) y (Bittencourt & Molinari, 2003) (6,58-15,98 g/dl). Los animales del tratamiento testigo mostraron una elevación en la concentración de hemoglobina lo que significa que existe una producción alta de glóbulos rojos en la sangre para compensar la deficiencia de oxígeno arterial según (Wintrobe, 1934), esto concuerda con lo estudiado por (Alaye, Hernández, Morales, & Sabanero, 2000) quienes demostraron que la concentración de hemoglobina varía según la concentración de oxígeno disuelto, etapa gonadal y estado fisiológico de los peces. Según (Petrov, 2001) y (Boytler, 1981) contaminantes como óxidos de nitrógeno y amoníaco desencadenan en los individuos una elevación en el pH sanguíneo de los animales provocando alteraciones osmoregulatorias y como resultado aceleración en el proceso de formación de metahemoglobina.

El valor medio para el hematocrito de *Oreochromis* sp. obtenido en este estudio está dentro del rango normal descritos por (Travares-Díaz & Faustino, 2005), (Feldman, Zinkl, & Jain, 2004) y (Bittencourt & Molinari, 2003), quienes obtuvieron un hematocrito de 15 -45%, 27%-47% y 15%-45%, respectivamente. El hematocrito es un análisis que permite detectar anemia y otros trastornos de la sangre, por lo que estas patologías fueron descartadas en los animales en estudio.

La concentración de proteína total en sangre se mantuvo dentro de los parámetros normales (1.81-3.9 g/dL) (Bittencourt & Molinari, 2003). Sin embargo en los animales testigo se evidenció aumento en la concentración de globulinas plasmáticas, las cuales son importantes en el funcionamiento del hígado, coagulación de la sangre y el combate contra las infecciones; su incremento podría indicar infección bacteriana y viral, enfermedades renales, enfermedades inflamatorias y enfermedades del sistema inmunitario según (El-Khaldi, 2010).

4.2.3 Análisis microbiológico a nivel intestinal

En el tracto digestivo de los animales tratados con probiótico se evidenció la presencia de bacterias benéficas del género *Bacillus* y *Lactobacillus*, no así en los animales testigo en donde se identificó menor variedad de bacterias benéficas y la presencia bacterias patógenas de la familia *Enterobacteriaceae* como *Morganella*, *Raoultella*, y *Edwardsiella*.

Los géneros *Morganella* y *Raoultella* se han descrito como agentes causantes de la toxicidad de la histamina y melanina en los peces. Por otro lado el género *Edwardsiella* es causante de septicemia en peces (Conroy, 2015).

En los animales tratados con probióticos, la ausencia de bacterias patógenas se debe al mecanismo de acción de las bacterias benéficas que involucra: la competencia de nutrientes, competencia por sitios de fijación en el intestino y aumento de la respuesta inmunológica del

hospedero estimulando la producción de anticuerpos, enzimas (fosfatasa ácida, lisozima) y péptidos antimicrobianos (surfactina, iturina y fengicina, antibióticos producidos por *Bacillus*), así como la elevación de actividad de macrófagos y de anticuerpos, incrementando así la resistencia a patógenos. (García , López , & Boucourt, 2015).

Lo anteriormente expuesto concuerda con la investigación de (Del'Duca, Cesar, Diniz, & Abreu, 2013) en la cual se demostró que la inclusión de *Bacillus* sp. en dietas balanceadas de tilapia mostró un efecto positivo en el control de *Aeromonas* sp. y *Pseudomonas* sp. abundantes en la microbiota intestinal de los peces, mejorando en un 74% la tasa de supervivencia en periodos de incubación.

Según lo reportado por (Aly, Abd-El-Rahman, John, & Mohame, 2008), una dieta suplementada con *L. acidophilus* mejoró las variaciones de respuesta inmune relacionada en el control de *A. hydrophila* y *Plesiomonas shigelloides*, además se demostró que *B. pumilus* actuó como un probiótico prometedor para controlar la infección por *A. hydrophila* en el cultivo de tilapia. La inclusión de *B. pumilus* y *P. fluorescens* en la alimentación de tilapia, mejoró el estado de salud y la resistencia a enfermedades en tilapia del Nilo según lo reportado por (Eissa & Abou-ElGheit, 2014).

4.2.4 Análisis económico

La adición de 5g de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en dietas balanceadas de *Oreochromis* sp. redujo en un 17,02% el costo de alimentación con respecto al tratamiento testigo sin probiótico, esto se logró gracias a la mejora de parámetros productivos como son el factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia. Según lo reportado por (Andrade, Wagner, Mahl, & Martins, 2005), el costo de alimentación representa el 52,3% del costo total de producción, reducir dicho costo permite la obtención de mejor rentabilidad en un proyecto productivo.

Por ésta razón el tratamiento con 5g de inclusión de probiótico en la dieta presentó un VAN (Valor Actual Neto) mayor que el resto, lo que significa que la inversión produciría mejores ganancias por encima de la rentabilidad exigida con este nivel de inclusión. El TIR (Tasa Interna de Rentabilidad) mostró que el proyecto devuelve el capital invertido más una ganancia adicional mayor que el resto de tratamientos. El análisis beneficio /costo (B/C) con este nivel de inclusión registró que por cada dólar invertido se obtiene una ganancia de \$0,77, este valor es mayor en \$0,52 con respecto al tratamiento testigo; mayor en \$0,47 y \$0,25 en relación a los niveles de 10 y 15 g de inclusión de probiótico en dieta respectivamente.

El TRI (Tiempo de Recuperación de la inversión) se evidenció con 1,17 años menos que el tratamiento testigo. El ROE (Rentabilidad Financiera) para este nivel de inclusión de probiótico, mostró valores mayores que el resto de tratamientos, por lo que se obtiene una mejor rentabilidad en función de los recursos propios utilizados en la financiación.

La adición de 5g de probiótico mostró una rentabilidad mayor en un 30% con respecto a un manejo convencional de alimentación en el cultivo de tilapia, estos resultados concuerdan con (Marques, Oliviera, Martins, & Soares, 2003) quienes informaron que proporcionar cantidades adecuadas de piensos y el uso de aditivos en la alimentación reduce considerablemente los costos de producción, y como resultado una mayor rentabilidad del proyecto, lo anteriormente expuesto es corroborado por (Garcia, Romera, & Gozi, 2014), quienes observaron que dentro de una producción con inclusión de aditivos en dietas balanceadas, los animales mostraron mejor eficiencia alimenticia, y como resultado un 60% más beneficio en comparación con un sistema de producción convencional en Mozambique.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- La inclusión del probiótico a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en dietas balanceadas mostró efectos positivos en la productividad de tilapia híbrida. La inclusión de 5g de probiótico reportó los mejores resultados en parámetros métricos, con incremento de 17,91% en peso corporal, 9,32% en largo total y 5,83% en ancho total, con respecto al tratamiento testigo.
- El aumento de pH y el incremento en la concentración de NH₃ en la piscina testigo, afectaron negativamente la ganancia de peso, factor de conversión alimenticia y eficiencia alimenticia en los animales testigo al día 40 y 50 del periodo experimental.
- En los animales con inclusión de 5g de probiótico en dieta se evidenció valores óptimos en el porcentaje de hematocrito y en las concentraciones de: hemoglobina, glucosa, proteína total, albúmina y globulina.
- En los perfiles de flora bacteriana de los animales tratados con el probiótico se identificó la presencia de bacterias benéficas de los géneros: *Bacillus* y *Lactobacillus*, no así en el tracto digestivo de los animales testigo en donde se identificó menor variedad de bacterias benéficas y la presencia bacterias patógenas como: *Morganella*, *Raoultella* y *Edwardsiella*.
- La inclusión de 5g del probiótico a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en dietas balanceadas de tilapia híbrida, reportó los mejores indicadores financieros, con un VAN de 646,62, TIR de 33,75, TRI de 3,25 años, ROE de 27,19% y un beneficio-costo mayor en \$0,52 en relación al tratamiento testigo.

5.2 Recomendaciones

- Es importante incluir el complejo probiótico a base de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en la dieta de *Oreochromis* sp. en una dosificación de 5 g/kg de alimento balanceado en la etapa de crecimiento y engorde.
- Se recomienda evaluar los parámetros métricos y productivos en animales sin confinamiento y realizar el pesaje cada 20 días para evitar estrés en los peces.
- Para determinar la capacidad de remoción de NH₃ del probiótico, se debe efectuar un análisis físico-químico de calidad de agua en condiciones de laboratorio.
- Mediante el uso de técnicas moleculares, se sugiere analizar el perfil microbiológico a nivel de tracto digestivo de los animales, identificar y aislar bacterias con potencial probiótico bajo las mismas condiciones de este estudio.
- Para evaluar el efecto de *Bacillus* spp. y *Paracoccus* sp. en la productividad de otras especies acuáticas, se recomienda utilizar las mismas dosificaciones utilizadas en el presente ensayo.

5.3 Bibliografía

- Alaye, N., Hernández, J., Morales, J., & Sabanero, S. (2000). Parámetros metabólicos del pescado blanco *Chirostoma estor estor* de Pátzcuaro, Michoacán, México. *INAPESCA*, 23-35.
- Alcaraz, L. (2010). Understanding the evolutionary relationships and major traits of *Bacillus* through comparative genomics. *BMC Genomics*, 11-332.
- Aly, S., Abdel-Galil, A., Abdel-Aziz, G., & Mohamed, M. (2008). Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish Shellfish Immunol*, 128-136.
- Aly, S., Abd-El-Rahman, A., John, G., & Mohame, M. (2008). Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. *Aquaculture*, 277.
- Aly, S., Mohamed, M., & John, G. (2008). Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*). *Aquac*, 647-656.
- Andrade, L., Wagner, R., Mahl, I., & Martins, R. (2005). *Custos de produção de tilápias (Oreochromis niloticus) em um modelo de propriedade da região oeste do Estado do Par.* 198-203: Brasil. *Ciência Rural*.
- Anon, K. (1998). *Probióticos en nutrición animal*. Obtenido de Hansem. Byo System. The Worlds microbialexperts: www.chrhansen.com
- Avnimelech, Y. (26 de 11 de 2012). *Biofloc Technology - A Pratical Guide Book*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States: 2. Ed. Obtenido de The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- 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 *Oerochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Biological sciences*, 385-389.
- Bortolozo, F., & Kira, K. (2002). *Uso de los probióticosna alimentacao de frangos de corte*. *Appl. Environ. Microb.* 68:2344.
- Boytlar, E. (1981). Disturbances in metabolism of erythrocytes in case of hemolytic anemia. *Moscow, Pub. Medicines*, 143.
- 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*.

- Chiu, K., & Liu, S. (2014). Dietary administration of the extract of *Rhodobacter sphaeroides* WL-APD911 enhances the growth performance and innate immune responses of seawater red tilapia (*Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 32-38.
- 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
- Copeland, A. (04 de 02 de 2001). *Rhorobacter*. Obtenido de UniProtKB: <https://www.uniprot.org/proteomes/UP000000361>
- Del'Duca, A., Cesar, D., Diniz, C., & Abreu, P. (2013). Evaluation of the presence and efficiency of potential probiotic bacteria in the gut of tilapia (*Oreochromis niloticus*) using the fluorescent in situ hybridization technique. *Aquaculture*, 115-121.
- Eissa, N., & Abou-ElGheit, E. (2014). Dietary supplementation impacts of potential nonpathogenic isolates on growth performance, hematological parameters and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Veterinary*, 712-719.
- 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
- FAO. (21 de 11 de 2016). Obtenido de <http://www.fao.org/aquaculture/es/>
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. *Contribución a la seguridad alimentaria y nutrición para todos*, 8-23.
- Feldman, B., Zinkl, J., & Jain, N. (2004). Farinha de sangue tostada em dietas práticas para tilápido Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Schalm'sveterinary hematology. 5ed*, Acta Scientiarum. Animal Sciences, 5-13.
- Fitzsimmons, K. (2005). Tilapia culture. *Aquaculture in the 21 Century*, American Fisheries Society, Maryland, 643.
- 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.
- Garcia, F., Romera, D., & Gozi, K. (2014). *Enfermidades de tilápias do Nilo em tanques-rede*. *Pesquisa & Tecnologia* 11.

- Gatesoupe, F. (1999). *Bacillus sp. spores as food additive for the rotifer Brachionus plicatilis: Improvement of their bacterial environment and their dietary value for larval turbot, Scophthalmus maximus L.* In: Fish Nutrition in Practice eds S.J. Kaush.
- 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. Makeprobiotics work for poultry*. World Poultry 16:18.
- Hurtado, N. (03 de 04 de 2002). *TILAPIA: La alternativa social y comercial del tercer mundo*. . Obtenido de http://www.revistaaquatic.com/documentos/docs/nh_tilapia3milenio.pdf
- Jawets, L. (1996). *Microbiología médica*. Ed. El ManualModerno.15: 834.
- Kelly, D. (2006). Redefining *Paracoccus denitrificans* and *Paracoccus pantotrophus* and the case for a reassessment of the strains held by international culture collections. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2495–2500.
- 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.
- Liu, C., Chiu, C., Ho, P., & Wang, S. (2009). Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. *Journal of applied 486 microbiology*, 1031-1041.
- 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 estapa 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>
- 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 estapa 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>
- Marques, N., Oliviera, D., Martins, R., & Soares, T. (2003). *Níveis diários de arraçoamento para alevinos de tilápia do nilo (Oreochromis niloticus, L.) cultivados em baixas temperaturas*. 97-104: Semina: Ciências Biológicas e da Sa.

- Moriarty, D. (1998). *Control of luminous Vibrio species in penaeid aquaculture ponds*. *Aquaculture* 164, 351- 358.
- Naranjo, R., Gutierrez, L., & RB, D. (2015). El uso de los probióticos en la industria acuícola. Artículo de revisión. *Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia Carrera, Caldas - Antioquia - Colombia*. Obtenido de Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia Carrera 51 118 sur 57 Caldas - Antioquia - Colombia.A.A 50130.
- 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
- Notarianni, E. (03 de 04 de 2006). *Ecuador después de la mancha blanca*. Obtenido de <http://industriaacuicola.com/biblioteca/Camaron/Ecuador%20despues%20de%20la%20WSSV.pdf>
- Ortiz, J. (03 de 05 de 2006). *Acuicultura. Obtenido de Técnicas de manejo de tilpia*. Obtenido de <https://docs.google.com/viewer?a=v&pid=sites&srcid=ZGVmYXVsdGRvbWFpbmVhY3VhY3VsdHVyYWp1YW5vcnRpenxneDo0NGJlMDg1YjFIOTI2OGM>
- Petrov, G. (2001). Pollution of the atmospheric air and its effect on the ecosystems. *Stara Zagora, Publication of Trakiiski University*, 95.
- 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.
- PRODUMAR. (01 de 02 de 2015). *Cultivo de tilapia*. Obtenido de <http://www.produmar.com.ec/la-empresa-produmar.aspx>
- Pronaca. (2008). Manual de manejo de cultivo de tilapia roja. Guayaquil - Ecuador, 8-9.
- Queiroz, J., & Boyd, C. (1998). Effects of a bacterial inoculum in channel catfish ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* , 67-73.
- Quiñonez, I. (2008). Efecto de bacterias ácido lácticas y levaduras con potencial probiótico en el cultivo de las tilapias *Oreochromis niloticus* y *Oreochromis* sp. *Guasave*, Sinaloa-México, 3- 43 .
- 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, N., Molinari, L., Oliviera, D., Bocchi, R., Vataru, C., Ueda-Nakamura, T., . . . Prado, B. (2016). *Haematological and biochemical values for Nile tilapia*. Brazil: Acta Scientiarum Biological Sciences.
- 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.
- Rodríguez, M., Rodríguez, G., Monroy, Y., & J., M. (2015). *Manual de Enfermedades de Peces” Boletín del Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico*. 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>
- Saavedra, M. (26 de 11 de 2006). *Introducción al Cultivo de Tilapia. Coordinación de Acuicultura*,. Obtenido de Coordinación de Acuicultura, Departamento de Ciencias Ambientales y Agrarias, Universidad Centroamericana. Managua, Nicaragua: http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/Pnadm649.pdf
- Schlegel, M., & Bowien, B. (1989). Autotrophic Bacteria. *Science Tech. Publ., Madison*, 305-329.
- 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.
- Thorarensen, H., & Farrell, A. (2011). Evaluation of Closed-containment Technologies for Saltwater Salmon Aquaculture. *National Research Council of Canada*, 1-254.
- Travares-Díaz, M., & Faustino, L. (2005). Haematological characteristics of Brazilian teleosts. III Parameter of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg x *Colossoma macropomum* Cuvier) (Osteichthyes, Characidae). *Bras. Zool., Curitiba*, 809-826.
- 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 proteoliticus* 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.