

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
SANTO DOMINGO

TEMA

“ELABORACIÓN DE UN PROBIÓTICO A BASE DE MICROORGANISMOS
NATIVOS Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO BENÉFICO AL PROCESO
DIGESTIVO DE LA TILAPIA ROJA (*Oreochromis spp.*) EN ETAPA
DE ENGORDE EN LA ZONA DE SANTO DOMINGO”

AUTORES

BLADIMIR RAMIRO LOPEZ VILLAGOMEZ

LUIS ADALBERTO CRUZ BENAVIDES

INFORME TÉCNICO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

2011

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
SANTO DOMINGO

“ELABORACIÓN DE UN PROBIÓTICO A BASE DE MICROORGANISMOS
NATIVOS Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO BENÉFICO AL PROCESO
DIGESTIVO DE LA TILAPIA ROJA (*Oreochromis spp.*) EN ETAPA
DE ENGORDE EN LA ZONA DE SANTO DOMINGO”

AUTORES

BLADIMIR RAMIRO LOPEZ VILLAGOMEZ
LUIS ADALBERTO CRUZ BENAVIDES

INFORME TÉCNICO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
AGROPECUARIO

SANTO DOMINGO - ECUADOR

2011

i

TEMA

“ELABORACIÓN DE UN PROBIÓTICO A BASE DE MICROORGANISMOS
NATIVOS Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO BENÉFICO AL PROCESO
DIGESTIVO DE LA TILAPIA ROJA (*Oreochromis spp.*) EN ETAPA
DE ENGORDE EN LA ZONA DE SANTO DOMINGO”

AUTORES

BLADIMIR RAMIRO LOPEZ VILLAGOMEZ

LUIS ADALBERTO CRUZ BENAVIDES

REVISADO Y APROBADO

.....
ING. VICENTE ANZULES

DIRECTOR DE CARRERA

CARRERA DE INGENIERIA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

.....
BLGO. NESTOR SALTOS

DIRECTOR

.....
ING. M.Sc. GUSTAVO NUÑEZ

CODIRECTOR

.....
ING. VINICIO UDAY

BIOMETRISTA

CERTIFICO QUE ESTE TRABAJO FUE PRESENTADO EN ORIGINAL,
(EN MEDIO MAGNÉTICO) E IMPRESO EN DOS EJEMPLARES.

.....
SECRETARIO ACADEMICO

TEMA

“ELABORACIÓN DE UN PROBIÓTICO A BASE DE MICROORGANISMOS NATIVOS Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO BENÉFICO AL PROCESO DIGESTIVO DE LA TILAPIA ROJA (*Oreochromis spp.*) EN ETAPA DE ENGORDE EN LA ZONA DE SANTO DOMINGO”

AUTOR

BLADIMIR RAMIRO LOPEZ VILLAGOMEZ

APROBADO POR LOS SEÑORES MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACION DEL INFORME TÉCNICO

	CALIFICACIÓN	FECHA
BLGO. NESTOR SALTOS DIRECTOR	_____	_____
ING. M.Sc. GUSTAVO NUÑEZ CODIRECTOR	_____	_____

CERTIFICO QUE ESTAS CALIFICACIONES FUERON PRESENTADAS EN ESTA UNIDAD

.....
SECRETARIO ACADEMICO

TEMA

“ELABORACIÓN DE UN PROBIÓTICO A BASE DE MICROORGANISMOS NATIVOS Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO BENÉFICO AL PROCESO DIGESTIVO DE LA TILAPIA ROJA (*Oreochromis spp.*) EN ETAPA DE ENGORDE EN LA ZONA DE SANTO DOMINGO”

AUTOR

LUIS ADALBERTO CRUZ BENAVIDES

APROBADO POR LOS SEÑORES MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACION DEL INFORME TÉCNICO

	CALIFICACIÓN	FECHA
BLGO. NESTOR SALTOS DIRECTOR	_____	_____
ING. M.Sc. GUSTAVO NUÑEZ CODIRECTOR	_____	_____

CERTIFICO QUE ESTAS CALIFICACIONES FUERON PRESENTADAS EN ESTA UNIDAD

.....
SECRETARIO ACADEMICO

DEDICATORIA

Al culminar mi vida universitaria dedico el resultado de mi esfuerzo, coraje y empeño, reflejado en este trabajo a:

A mis adorados padres, Miguel y Adela por estar a mi lado y apoyarme en todo momento, darme ánimo, principios, amor, cariño, formación de calidad y un gran espíritu de superación.

A mis hermanos Bryan y Viviana por ser muy importantes y estar conmigo siempre, dándome una mano cuando lo necesité. A toda mi familia que siempre me apoyó en toda circunstancia.

Y obvio lo más importante, Dios que es mi compañero y que siempre estuvo conmigo para nunca dejarme desmayar.

Luis Adalberto

Al finalizar mi estudio universitario, dedico este trabajo de investigación con mucho orgullo y satisfacción fruto de mi voluntad, entrega y constancia, reflejado en esta tesis de grado:

A mis apreciados padres, Ramiro y Gladys, quienes con su inmenso e invaluable amor, siempre estuvieron apoyándome y aconsejándome en todos los momentos de mi vida e hicieron posible que se cumpla uno de mis sueños, mi formación profesional.

Mis hermanos Stefano, Francesco, Alexandra y Gabriela por su amor y apoyo incondicional en todo momento.

A mis amigos la Familia Rojas, Familia Noboa y a Paul C. quienes estuvieron en todo momento brindándome su apoyo intelectual durante esta etapa universitaria.

Y muy especialmente a los dos amores de mi vida, mi esposa Alexandra y a mi adorado hijo Nicolás, sin su apoyo nada de esto hubiese sido posible.

Doy gracias a Dios y a la Virgen María que siempre me acompañan y son la fuente de mi fuerza.

Bladimir Ramiro

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar en primer lugar gratitud a la ESPE, su Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias, Extensión Santo Domingo de los Tsáchilas, por participar de nuestra formación y constante apoyo durante nuestra etapa profesional e intelectual.

Debemos manifestar nuestro más profundo agradecimiento a los Profesores, Director Blgo. Néstor Saltos, Codirector Ing. M.Sc. Gustavo Núñez y Biometrista Ing. Vinicio Uday, que diariamente han sido un baluarte sumamente importante al alentar la iniciación y finalización de este trabajo investigativo.

Así mismo, queremos mostrar gratitud a todas las personas que de una u otra forma se han considerado integradas en este trabajo, por su amistad y entrega desinteresada para el desarrollo de esta tesis.

¡Muchas gracias a todos....!

AUTORÍA

Las ideas expuestas en el presente trabajo de investigación, así como los resultados, discusión y conclusiones son de exclusiva responsabilidad de los autores.

López Villagomez Bladimir Ramiro

Cruz Benavides Luis Adalberto

INDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. CULTIVO DE LA TILAPIA.....	4
2.2. REQUERIMIENTO DEL MEDIO AMBIENTE PARA TILAPIA.....	5
2.2.1. Temperatura.....	5
2.2.2. Oxígeno disuelto.....	6
2.2.3. pH.....	6
2.2.4. Transparencia.....	6
2.3. ALIMENTACIÓN DE TILAPIAS.....	6
2.4. MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN LA ACUICULTURA.....	8
2.4.1. Características de bacterias (<i>Bacillus</i>).....	9
2.4.2. Características de las levaduras.....	10
2.5. ENFERMEDADES DE LA TILAPIA.....	12
2.6. ANTIBIÓTICOS EN ACUICULTURA.....	13
2.7. LOS PROBIÓTICOS.....	13
2.8. USO DE PROBIÓTICOS EN EL CULTIVO DE TILAPIAS.....	15
2.9. MEZCLAS PROBIÓTICAS.....	17
2.10. TIPOS DE PROBIÓTICOS.....	17
2.11. SELECCIÓN DE LAS CEPAS CANDIDATAS A PROBIÓTICAS.....	18
2.12. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS.....	18
2.12.1. Producción de compuestos inhibidores.....	19
2.12.2. Competencia por compuestos químicos o por energía disponible.....	20
2.12.3. Competencia por sitios de adhesión.....	20
2.13. EFECTOS BENÉFICOS DE LOS PROBIÓTICOS.....	21
2.14. DESVENTAJA DE LOS PROBIÓTICOS.....	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACION.....	22
3.1.1. Ubicación Política.....	22
3.1.2. Ubicación de laboratorio.....	22

3.1.2. Ubicación Geográfica.....	22
3.1.3. Ubicación Ecológica.....	23
3.2. MATERIALES.....	23
3.2.1. Laboratorio.....	23
3.2.1.1. Equipos.....	23
3.2.1.2. Materiales y reactivos.....	24
3.2.2. Campo.....	24
3.2.2.1. Insumos.....	24
3.2.2.2. Materiales y equipos.....	25
3.2.2.3. Instrumentos.....	25
3.2.2.4. Herramientas.....	26
3.3. MÉTODOS.....	26
3.3.1. Fase de laboratorio.....	26
3.3.1.1. Recolección de muestras.....	26
3.3.1.2. Siembra en los medios de cultivo.....	27
3.3.1.3. Purificación de colonias.....	29
3.3.1.4. Identificación de cepas nativas.....	29
3.3.1.5. Concentración de bacterias.....	29
3.3.1.6. Formulación del probiótico.....	29
3.3.1.7. Preparación del inoculo bacteriano.....	30
3.3.2. Diseño experimental.....	32
3.3.2.1. Factores a probar.....	32
3.3.2.2. Tratamientos a comparar.....	33
3.3.2.3. Tipo de diseño.....	33
3.3.2.4. Observaciones.....	33
3.3.2.5. Características de las unidades experimentales.....	33
3.3.3. Análisis estadístico.....	34
3.3.3.1. Esquema del análisis de varianza.....	34
3.3.3.2. Análisis funcional.....	34
3.3.4. Variables a medir.....	34
3.3.4.1. Peso.....	34
3.3.4.2. Mortalidad.....	35
3.3.4.3. Conversión alimenticia.....	35
3.3.4.4. Incidencia de enfermedades.....	35
3.3.4.5. Tamaño.....	36

3.3.4.6. Análisis microbiológicos.....	36
3.3.5. Métodos específicos de manejo del experimento.....	36
3.3.5.1. Preparación del área de ensayo y arreglo de tanques.....	36
3.3.5.2. Recepción de peces.....	37
3.3.5.3. Alimentación y protocolo del probiótico.....	38
3.3.5.4. Medición de parámetros básicos del agua.....	38
3.3.5.5. Medición de variables.....	39
3.3.5.6. Manejo general.....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1. FASE DE LABORATORIO.....	40
4.1.1. Aislamientos de cepas nativas.....	40
4.1.1.1. Caracterización morfológica.....	40
4.1.1.2. Caracterización molecular.....	40
4.1.1.3. Formulación del probiótico.....	41
4.2. FASE DE CAMPO.....	41
4.2.1. Ganancia de peso.....	41
4.2.2. Variable tamaño alto.....	45
4.2.3. Variable tamaño largo.....	48
4.2.4. Variable Conversión alimenticia.....	51
4.2.5. Análisis de enfermedades.....	55
4.2.6. Análisis de mortalidad.....	56
4.2.7. Análisis económico.....	56
V. CONCLUSIONES.....	59
VI. RECOMENDACIONES.....	60
VII. RESUMEN.....	61
VIII. SUMARIO.....	62
IX. BIBLIOGRAFIA.....	63
X. ANEXOS.....	71

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°	Pág.
Cuadro 1. Tabla de alimentación del programa Pro-tilapia.....	7
Cuadro 2. Respuesta obtenida en peces a la utilización de diversos probióticos..	8
Cuadro 3. Equipos a utilizar en laboratorio.....	23
Cuadro 4. Materiales y reactivos a utilizar en laboratorio.....	24
Cuadro 5. Equipos a utilizar en el campo.....	24
Cuadro 6. Materiales y equipos a utilizar en el campo.....	25
Cuadro 7. Instrumentos a utilizar en el campo.....	25
Cuadro 8. Herramientas a utilizar en el campo.....	26
Cuadro 9. Tratamientos a comparar en el ensayo.....	33
Cuadro 10. Análisis de varianza para el ensayo.....	34
Cuadro 11. Pruebas Morfológicas de <i>Bacillus</i> y <i>Saccharomyces</i>	40
Cuadro 12. Pruebas bioquímicas de <i>Bacillus</i>	40
Cuadro 13. ADEVA para medir el efecto de diferentes probióticos nativo y comercial a los 20, 40, 60, 79, 102, y 124 días sobre el peso en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	42
Cuadro 14. Medias y rangos de significancia de la variable peso.	42
Cuadro 15. ADEVA para medir el efecto de diferentes probióticos nativo y comercial a los 20, 40, 60, 79, 102, y 124 días sobre el alto en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	45
Cuadro 16. Medias y rangos de significancia de la variable alto.....	46
Cuadro 17. ADEVA para medir el efecto de diferentes probióticos nativo y comercial a los 20, 40, 60, 79, 102, y 124 días sobre el largo en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	49
Cuadro 18. Medias y rangos de significancia de la variable largo.....	50
Cuadro 19. ADEVA para medir el efecto de diferentes probióticos nativo y comercial a los 20, 40, 60, 79, 102, y 124 días sobre conversión alimenticia en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	52
Cuadro 20. Medias y rangos de significancia de la variable conversión alimenticia.....	52
Cuadro 21. Costos variables y beneficios netos para los tratamientos con la adición de probióticos comercial y un probiótico nativo en base a <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	57
Cuadro 22. Análisis marginal de tratamientos no dominados.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		Pág.
Figura 1.	Estructura interna de la tilapia.....	5
Figura 2.	Croquis de ubicación geográfica de Santo Domingo.....	22
Figura 3.	Secciones de extracciones de la muestra.....	26
Figura 4.	Soluciones madres.....	27
Figura 5.	Diluciones de muestras y siembra de las mismas en cajas.....	28
Figura 6.	Medias de Tukey de la variable peso a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	44
Figura 7.	Efecto de dos probióticos, nativo y comercial sobre el incremento de la variable peso (gramos) durante los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	45
Figura 8.	Medias de Tukey de la variable tamaño alto a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	47
Figura 9.	Efecto de dos probióticos, nativo y comercial sobre el incremento de la variable tamaño alto (mm) durante los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	48
Figura 10.	Medias de Tukey de la variable tamaño largo a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	50
Figura 11.	Efecto de dos probióticos, nativo y comercial sobre el incremento de la variable tamaño largo (mm) durante los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias, en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	51
Figura 12.	Medias de Tukey de la variable conversión alimenticia a los 20, 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	54
Figura 13.	Efecto de dos probióticos, nativo y comercial sobre la variable conversión alimenticia durante los 20, 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias, en etapa de engorde en Santo Domingo, 2010.....	55
Figura 14.	Curva de beneficios netos.....	58

I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura tiene una historia de 4000 años pero ha sido desde hace 50 años que se ha convertido en una actividad económica relevante. Su contribución al suministro mundial de pescado, crustáceos y moluscos crece de forma imparable año tras año. Según estadísticas de la FAO, ha pasado del 5,2% de la producción total en 1970 al 34,1% en 2002 (APROMAR, 2004).

En nuestro país la acuicultura ha tenido buena acogida por la existencia de especies con grandes aptitudes de manejo y por la gran cantidad de alimento que aportan. Entre estas está la tilapia roja, considerada una de las especies dulceacuícolas más exitosa (Lara *et al.*, 2002); debido a que existe alta demanda en el mercado interno así como los excelentes precios y demanda de filetes existente en el mercado norteamericano (Redmayne, 2001).

En Ecuador, el cultivo de la tilapia como negocio rentable nace a partir de la aparición del virus de la mancha blanca que afectó la producción camaronera, provocando que se encuentre mucha infraestructura desocupada como piscinas, estanques y plantas de balanceados, que luego fue ocupada para el cultivo de este pez (Delfini, 2006).

Lara *et al.*, (2002) menciona que la tilapia se cultiva en sistemas intensivos y semi-intensivos donde los requerimientos nutricionales son satisfechos con dietas artificiales completas. Debido a las condiciones de cultivo, como son altas densidades de siembra y limitada calidad de agua, los organismos se encuentran sujetos a un estrés constante que se traduce en bajas tasas de crecimiento e ineficiencia alimenticia, así como presencia de enfermedades.

Para que estos problemas por los cuales atraviesa el cultivo de tilapia y que afectan directamente en la producción final, se han considerado varias alternativas que permiten mejorar, una de ellas es corregir la alimentación a través de productos beneficiosos tanto para la salud del pez, como para el hombre, ya que no producen efectos residuales, uno de estos productos son los probióticos.

Se considera alimento probiótico aquel que contiene bacterias vivas que permanecen activas en el intestino y ejercen importantes efectos fisiológicos, al ser ingeridos en cantidades suficientes tienen efecto muy beneficioso, como contribuir al equilibrio de la flora intestinal y potenciar el sistema inmunológico (Seh-lalha, 2008), dando como resultado un rápido crecimiento y mejor salud del animal.

Los resultados del estudio permitirán que los acuicultores vean a los probióticos como una alternativa capaz de mejorar sus cultivos de tilapia y puedan así ser mayormente competitivos, permitiendo que sus producciones se conviertan económicamente rentables.

Además estos resultados se convertirán en la base para futuras investigaciones dicho que la mayoría de los estudios de probióticos se han enfocado a diferentes especies como ratas, cerdos, pollos, humanos y en cuanto a peces las investigaciones son recientes y muy minúsculas.

Se realizó la investigación tomando en cuenta los siguientes objetivos.

GENERAL

- Determinar el efecto del probiótico nativo que contiene *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*, sobre el crecimiento de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en Santo Domingo de los Tsáchilas.

ESPECÍFICOS

- Aislar los microorganismos presentes en del tracto digestivo de la tilapia roja.
- Identificar las cepas nativas de *Bacillus subtilis* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*
- Multiplicar los microorganismos probióticos aislados en un sustrato de sostén (Harina de pescado)
- Formular el probiótico de acuerdo a la concentración requerida, para adicionarlo a la dieta.

- Evaluar la eficiencia en los peces, con la aplicación de un probiótico nativo obtenido, versus el probiótico comercial utilizando los siguientes factores de medición: peso, tamaño (alto y largo), incidencia de enfermedades e índice de conversión alimenticia.

La hipótesis planteada para la investigación se la describe como:

La adición de probióticos al alimento balanceado de tilapia en etapa de engorde, no incidirá en la ganancia de peso, tamaño y mortalidad de los peces.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CULTIVO DE TILAPIA

El cultivo de tilapia posee gran importancia en la producción de proteína animal en todo el mundo, particularmente en los países en vías de desarrollo (Lara-Flores *et al*, 2002). Quiñonez, (2008), da a conocer que la tilapia es cultivada en más de 100 países y ocupa el segundo puesto en la producción mundial con 1,6 millones de toneladas métricas al año. Este crecimiento le ha permitido conquistar todo tipo de mercados, tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo

La tilapia (Figura.1) es un pez teleósteo, del orden Perciforme perteneciente a la familia Cichlidae originario de África. Habita en la mayor parte de las regiones tropicales del mundo, donde las condiciones son favorables para su reproducción y crecimiento.

Entre todas las especies pertenecientes al denominador común de “tilapia” (genero tilapia y *Oreochromis*), la “tilapia del Nilo o tilapia nilótica” es la de mayor aceptación y producción a nivel mundial, junto al híbrido de “tilapia roja”. Por lo tanto el género *Oreochromis* es el que se considera de mayor importancia dentro de los cultivos comerciales existentes.

Productores en Ecuador, Costa Rica y Honduras exportan el filete fresco de tilapia cultivada a mercados en Norteamérica. También, hay comercio internacional importante de esta especie entre varios de los países latinoamericanos. Además, los mercados locales para tilapia están creciendo en Centro América (Pronaca, 2008)

Notarianni (2006), nos indica que al Ecuador la tilapia fue introducida en los años ´80, ingresando como cultivos artesanales, 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 más industrial.

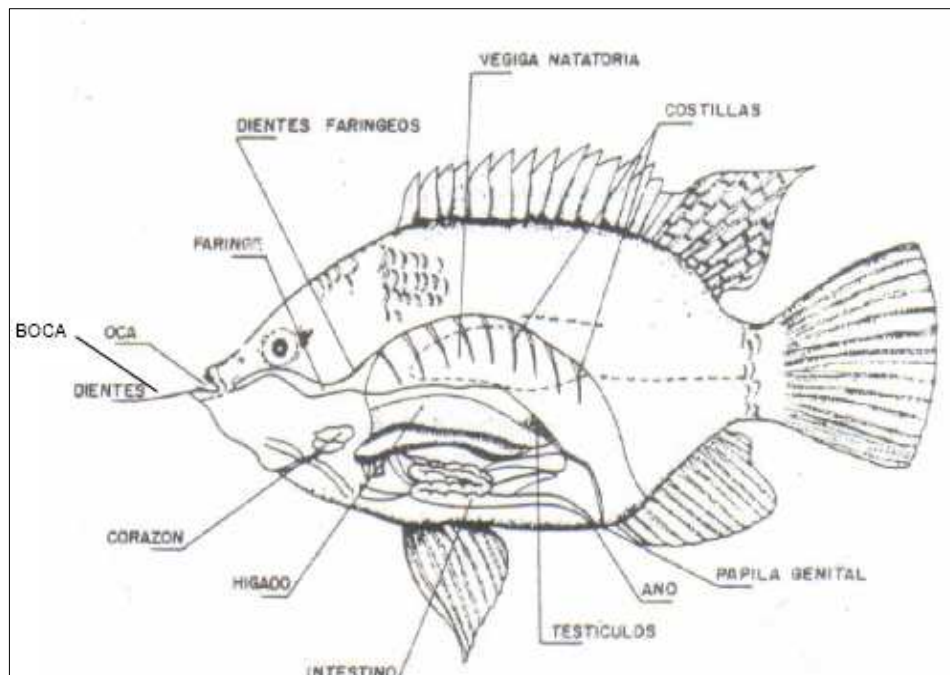


Figura 1. Estructura interna de la tilapia

Fuente: Colpos, 2005

2.2. REQUERIMIENTOS DEL MEDIO AMBIENTE PARA TILAPIAS

Poot, *et al.* (2009) manifiesta que para cultivar tilapia es importante tomar en cuenta las propiedades fisicoquímicas del agua. Estas deben mantenerse dentro de los parámetros óptimos para garantizar el desarrollo de los peces.

Entre las propiedades más importantes tenemos la temperatura, oxígeno disuelto, pH y transparencia las cuales influyen directamente en los aspectos productivos y reproductivos de los peces. Por lo que es importante que se mantengan dentro de los rangos óptimos para el desarrollo de los peces.

2.2.1. Temperatura

El rango óptimo de temperatura del agua para el cultivo de tilapias fluctúa entre 28 y 32°C, con variaciones de hasta 5°C.

Los cambios de temperatura afectan directamente la tasa metabólica, mientras mayor sea la temperatura, mayor será la tasa metabólica y por ende, subirá el consumo de oxígeno.

2.2.2. Oxígeno disuelto

El rango óptimo está por encima de los 4 mg/l. A continuación se da a conocer los niveles de oxígeno (mg/l) y sus efectos.

- 0,0 - 0,3 : Los peces pequeños sobreviven en cortos períodos.
- 0,3 - 2,0 : Letal en exposiciones prolongadas.
- 3,0 - 4,0 : Los peces sobreviven pero crecen lentamente.
- > 4,5 : Rango deseable para el crecimiento del pez.

2.2.3. pH

En peces como la tilapia el rango normal del agua se encuentra entre 6,5 y 9,0 ya que esto permite la secreción normal de mucus en la piel, combinado con una dureza normalmente alta.

2.2.4. Transparencia

Se recomienda hacer recambios de agua en proporción al nivel de turbidez hasta dejarla en los valores ideales, este recambio puede ser continuo o bajando el nivel del agua entre 30 y 40 cm para reponerla con agua nueva, el color ideal a obtener es un verde claro.

2.3. ALIMENTACIÓN DE LAS TILAPIAS

El género *Oreochromis* se clasifica como Omnívoro, por consumir diversidad de alimentos, variando desde vegetación macroscópica hasta algas unicelulares y bacterias, tendiendo hacia el consumo de zooplancton. Las Tilapias son peces provistos de branquiespinas con los cuales los peces pueden filtrar el agua para

obtener su alimento basado en algas y otros organismos acuáticos microscópicos. Los alimentos ingeridos pasan a la faringe donde son mecánicamente desintegrados por los dientes faríngeos.

Para el cultivo se han empleado diversos alimentos, tales como plantas, desperdicios de frutas, verduras y vegetales, semillas oleaginosas y cereales, todos ellos empleados en forma suplementaria. La base de la alimentación de tilapia la constituyen los alimentos naturales que se desarrollan en el agua y cuyo contenido proteico es de un 55% (peso seco) aproximadamente (Poot, *et al.* 2009).

En cultivos para producción comercial, se utilizan tablas de alimentación que constituyen una base para todo el ciclo de cultivo, además estas tablas permiten tener una idea de cuánto alimento requerimos para el ciclo de cultivo, pudiendo determinar cuáles pueden ser nuestros gastos. Los resultados de estas tablas pueden variar dependiendo de la temperatura, calidad de agua y calidad de semilla. En el cuadro 1 se indica una tabla utilizada por la empresa Pronaca.

Cuadro 1. Tabla de alimentación del programa Pro- tilapia

Tipo de alimento	Proteína (%)	Peso corporal tilapia (gr)	Tamaño partícula (mm +/- 0,5)	Rango (días)	Tasa alimenticia (% Biomasa)	Dosis recomendada (día)
Tilapia juvenil 1	35	5 a 10	2,2	31 a 50	8	6
Tilapia juvenil 2	32	11 a 60	2,2	51 a 100	6	6
Tilapia Engorde 1	32	61 a 150	2,8	101 a 140	4	4
Tilapia Engorde 2	30	151 a 250	3,5	141 a 180	2,5	3 a 4
Tilapia Engorde 3	28	251 a 350	6	181 a 220	1,5	3
Tilapia Engorde 4 A	24	351 a 550	6	221 a 275	1,5	3
Tilapia Engorde 4 B	24	> 550	9,5	> 275	1,5	2 a 3
Tilapia Reproductor	40	150 a 1000	2,8 / 3,75 y 6	> 100	4	3

Fuente; Pronaca, 2008

Según (Lozano, 2001) el mejor horario para alimentar a los peces está entre las 10H00 y 15H00 ya que en este periodo la acidez del tracto digestivo está en su máximo nivel y este debe ser consumido en un tiempo no mayor a 20 minutos. El pez requiere de proteínas, lípidos, energía, vitaminas y minerales para cumplir con funciones vitales.

2.4. MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN LA ACUICULTURA

El concepto de ingerir microorganismos vivos con el propósito de manipular la microflora y mejorar la salud intestinal y el bienestar general de un organismo, tiene sus primeras raíces a inicios del siglo XX. Esta práctica actualmente se encuentra sujeta a mucha investigación con la finalidad de obtener bacterias efectivas contra microorganismos patógenos, así como para establecer los beneficios generales en el huésped. La mayoría de productos que se han propuesto para uso en la acuicultura son los probióticos, entre ellos existen diferentes grupos como las bacterias ácido lácticas y géneros como *Vibrio*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, principalmente (Austin *et al.* 1995; Garriques y Arévalo, 1995; Ringo y Gatesoupe, 1998; Verschuerer *et al.* 2000; Sullivan, 2001).

Burr y Gatlin (2005), nos indican que con la aplicación de probióticos en peces de varias especies y con diferentes dosis lograron obtener los siguientes resultados:

Cuadro 2. Respuesta obtenida en peces a la utilización de diversos probióticos

Probiótico	Especie	Dosis y tiempo	Respuesta encontrada	Referencias
<i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. Licheniformis</i>	Trucha arco iris	4 x 10 ⁴ esporas/g dieta por 42 días	Resistencia a <i>Yersinia ruckeri</i>	Raida <i>et al.</i> (2003)
<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Brema marina	0.5x10 ⁷ CFU/g a 1.0x10 ⁷ CFU/g en la dieta diaria por 21 días	Aumento en la respuesta inmune innata celular	Salinas <i>et al.</i> (2005)
<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	Tilapia nológica	0.1% dieta x63días	Aumento en ganancia de peso y eficiencia alimenticia	Lara-Flores <i>et al.</i> (2002)

Fuente: Burr y Gatlin (2005).

2.4.1 Características de Bacterias (*Bacillus*)

Las bacterias del género *Bacillus* microbiológicamente son consideradas como Gram positivas en forma de bastoncillo, agrupadas en cadenas, mótils y flagelación períttrica, formadoras de endosporas, anaerobias estrictas o facultativas, no son adherentes, y son productoras de sustancias antimicrobianas y enzimas hidrolasas. Entre las especies de mayor importancia como probióticos pertenecientes a este género están *Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* y *B. natto* (Jawets, 1996).

Anon (1998), da a conocer que la producción de endosporas es una característica típica de todas las bacterias de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Estas son pequeñas estructuras ovoides o esféricas, en las que pueden transformarse estas bacterias y constituyen formas celulares muy resistentes al calor y al medio adverso. Otros de los elementos que caracteriza a los *Bacillus sp.* es la producción de enzimas hidrolíticas que ayudan a mejorar la utilización de los alimentos. Dentro de estas se encuentran las proteasas, amilasas y las glicosidasas que descomponen las complejas moléculas de los alimentos y las transforman en nutrientes más simples. Estos compuestos son absorbidos más rápidamente por el animal o pueden ser empleados por otras bacterias beneficiosas para el establecimiento de una microflora intestinal balanceada. El empleo de las bacterias del género *Bacillus* y sus endosporas también viene dado por su capacidad de producción de enzimas, estas además de mejorar la digestión en el hospedero, son capaces de inhibir el crecimiento microbiano de bacterias dañinas. Las endosporas por su parte, estimulan el sistema inmune contribuyendo a la resistencia contra el desafío de patógenos ambientales.

Bortolozo (2002), informa que dentro de los *Bacillus* mas utilizados como probióticos se encuentra el *Bacillus subtilis*, a pesar de estar considerados como microorganismo transitorio del tracto gastrointestinal (TGI), pues no poseen la capacidad de adherirse al epitelio intestinal, su efecto esta encaminado a multiplicar y favorecer la colonización de otros microorganismos como es el caso de *Lactobacillus acidophilus*.

2.4.1.1 Efectos beneficiosos del uso de los *Bacillus* y sus endosporas como probióticos en peces

Dentro de la actividad enzimática específica de algunas especies de *Bacillus* se citan:

- *Bacillus subtilis* produce proteasa, amilasa, β -glucanasa y otras enzimas, *Bacillus licheniformis* produce proteasa, amilasa y otras enzimas y *Bacillus circulans* produce β -glucanasa.

El empleo de endosporas de *Bacillus sp.* puede contribuir a una disminución de acidez del intestino en los peces, favoreciendo el crecimiento de *Lactobacillus* en el TGI, estimulando el sistema inmune, contribuyendo a la resistencia contra el desafío de patógenos ambientales, Inhibiendo y controlando el crecimiento microbiano de bacterias dañinas y favorecen el proceso digestivo de la tilapia (Anon, 1998).

Las endosporas de *Bacillus subtilis* que generalmente, permanecen viables en el alimento suministrado a los peces son estables en la acidez gástrica, actúan contra patógenos específicos en el intestino e incrementan los *Lactobacillus* del tubo intestinal (Jiraphocakul *et al.* 1990).

2.4.2 Características de las Levaduras

Quiñonez. 2008, indica que los hongos unicelulares, usualmente de forma ovalada, con estados vegetativos que se reproducen predominantemente por gemación o fisión, dando por resultado un crecimiento unicelular, aunque algunas pueden ser dimórficas o bifásicas y crecer como micelio bajo condiciones ambientales apropiadas. Este grupo de microorganismos está incluido taxonómicamente en la División Eumycota y dadas sus características de reproducción sexual, se pueden ubicar en tres subdivisiones: Ascomycota, que comprende a levaduras que pueden formar esporas contenidas dentro de un asca; Basidiomycota, en donde los representantes forman esporas externas localizadas sobre basidios o esterigmas y Deuteromycota en donde se incluyen todas aquellas

levaduras para las que no ha sido posible demostrar que presentan una fase sexual en su ciclo de vida.

Las levaduras registran una amplia distribución en un variado tipo de hábitats terrestres. Sin embargo, es poco lo que se sabe de las levaduras de ecosistemas acuáticos, particularmente del marino. También hay algunas levaduras que son capaces de distribuirse en ambientes salinos no marinos y son altamente halofílicas o halotolerantes (Ochoa y Vásquez-Juárez, 2004).

Quiñonez (2008), afirma que en los ecosistemas acuáticos, la mayoría de las levaduras probablemente crecen en condiciones no óptimas, requiriendo para su desarrollo sitios de amplificación de las poblaciones como sedimentos, detrito y de manera importante, están asociadas a organismos acuáticos para su desarrollo

Del salmón del atlántico se han aislado diferentes especies de levaduras, con cuentas de hasta 3×10^3 células/g de intestino. Las especies dominantes fueron *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula rubra* y *Rhodotorula glutinis* (Andlid, 1995).

La mayoría de las células en tránsito por el intestino de peces son eliminadas rápidamente debido al continuo flujo de agua, situación que pone en duda la presencia de microflora normal en estos tejidos. Sin embargo, se ha demostrado que algunas especies de levaduras poseen mecanismos que le permite colonizar el intestino de peces y eventualmente amplificar la población (Andlid, 1995).

Otros estudios más detallados han establecido el mecanismo de colonización, el cual parece estar mediado por la participación de adhesinas específicas y la hidrofobicidad típica de este tipo de células. Actualmente, hay un modelo que propone que las células tienen capacidad para cambiar rápidamente su fenotipo de superficie celular (hidrofóbico-hidrofílico) en respuesta a la disponibilidad de nutrientes, lo que les confiere capacidad de crecer con componentes de la mucosa como única fuente de energía y establecer una relación estrecha a través del reconocimiento específico de ciertos componentes de la mucosa.

Quiñonez (2008), menciona dos aspectos que han motivado la consideración del uso de levaduras como probióticos en acuicultura: primero, el difundido y probado efecto benéfico de levaduras en diversos modelos que incluyen al hombre; y segundo, la demostración de la presencia de levaduras en el tracto digestivo de peces con una alta capacidad de colonización.

La levadura *Saccharomyces boulardii* es ampliamente utilizada en varios países de Europa en el tratamiento de enteritis infecciosa aguda, en desórdenes producidos por el uso de antibióticos y colitis asociadas a infecciones por *Clostridium difficile*. El género *Candida* sp. se utiliza en el cultivo a gran escala de rotíferos. Diversos mecanismos del efecto benéfico han sido descritos y se sugiere que la expresión de enzimas intestinales es favorecida por poliaminas secretadas por el organismo.

2.5. ENFERMEDADES DE LA TILAPIA

Uno de los inconvenientes que presenta el cultivo de tilapia es la aparición de enfermedades en edades tempranas (larvas y alevines) causadas por hongos, parásitos, crustáceos, y un gran número de bacterias (Conroy, 2004), por lo cual se ve afectado el desarrollo y crecimiento del pez (Moriarty, 1999).

Este resurgimiento de las enfermedades se relaciona con la intensificación de los métodos de cultivo. Actualmente las tilapias se cultivan en densidades cada vez mayores y en sistemas de recirculación de agua; y aunque la tilapia crece de manera importante en estos sistemas, los patógenos también.

La erradicación de un patógeno generalmente implica el despoblamiento, la esterilización y la repoblación del área; pero aun llevando a cabo el segundo paso, el de la esterilización, nunca se conocerá si se eliminaron por completo los patógenos (Conroy, 2004). Dentro de los métodos de control de enfermedades tenemos la utilización de los siguientes productos:

2.6. ANTIBIOTICOS EN ACUICULTURA

Una de las soluciones prácticas que se han encontrado para resolver el problema de las enfermedades, especialmente bacterianas, es el uso de antibióticos; sin embargo, los problemas de resistencia generados por los mismos han dirigido la investigación hacia el uso de controles más amigables con el organismo y con el ambiente (Sotomayor y Balcázar, 2003).

Quiñonez (2008), nos da a conocer que entre los antibióticos usados en la acuicultura, están la tetraciclina, cloramfenicol, quinolonas; además de varios agentes terapéuticos, desinfectantes, pesticidas, tratamientos para el agua y el suelo, y aditivos para alimentos

El uso inapropiado de estas sustancias puede resultar en efectos adversos en el animal como alteraciones hormonales, intoxicación, predisposición a enfermedades (Lara- Flores *et al.*, 2002), además de la acumulación de antibióticos en los órganos internos del pez, haciéndolos inadecuado para el consumo humano, y con riesgos de contaminación ambiental. Alguna de estas sustancias es excretada sin haber sido metabolizadas o liberadas como metabolitos activos, persistiendo en el ambiente durante largo tiempo.

La tendencia actual de control es de restringir o reducir el uso de antibióticos utilizando probióticos, los cuales son utilizados como una estrategia de control bacteriológico bajo el principio de exclusión competitiva, ya que ocupan espacios y demandan nutrientes del agua, del fondo del estanque, del tracto digestivo y reducen la colonización y el desarrollo de otros microorganismos patógenos (Quiñonez, 2008).

2.7. LOS PROBIÓTICOS

A lo largo de la historia y siempre a la luz de los resultados científicos existentes en cada época, han sido varias las definiciones que se han propuesto para el término probiótico (OMS, 2001).

Naidu et al., (1999), describe a los probióticos como complementos nutricionales en base de microorganismos que favorecen la fisiología del huésped modulando la inmunidad sistemática y mucosa, así como mejorando el equilibrio microbiano al prevenir la colonización de bacterias indeseables en el tracto intestinal.

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 uso de probióticos en acuicultura se ha intensificado en los últimos diez años (Verschuere *et al.* 2000). Una de las causas es probablemente la limitación de su uso en la alimentación de monogástricos y mascotas.

El efecto benéfico de los probióticos se atribuye en general a tres mecanismos diferentes (Wang *et al.* 2000, Verschuere *et al.* 2000), que a su vez pueden deberse a varias causas:

2.7.1. Mejoramiento de la calidad del agua

Ya sea por metabolización de la materia orgánica o por interacción con algunas algas.

2.7.2 Exclusión competitiva de bacterias nocivas

Ya sea por:

- a) Competencia por nutrientes;
- b) Competencia por sitios de fijación en el intestino;
- c) Aumento de la respuesta inmunológica del hospedero.

2.7.3 Aportes benéficos al proceso digestivo del hospedero

Mediante

- a) Aporte de macro y micronutrientes para el hospedero o
- b) Aporte de enzimas digestivas.

Uno de los microorganismos más usados como probiótico es la bacteria *Bacillus subtilis*, En 1941 el ejército alemán en África del Norte descubrió que los árabes se auto medicaban la disentería ingiriendo excremento fresco de camello y verificaron que la ingestión de *B. subtilis* era la causa de esta mejoría, aplicando luego este tratamiento (sin el excremento) con éxito a sus propias tropas. (Günther y Jiménez, 2004).

2.8. USO DE PROBIÓTICOS EN EL CULTIVO DE TILAPIA

En el caso de tilapia se han realizado pocas investigaciones para determinar si la ingestión de un probiótico produce variaciones en su comunidad bacteriana y si genera efectos en el organismo. Lara- Flores *et al.* (2002) realizaron un estudio comparativo de un probiótico comercial contra microorganismos aislados del tracto gastrointestinal de la tilapia, ellos observaron resultados favorables especialmente con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la cual dio lugar a un mayor crecimiento y mejor eficiencia alimenticia en comparación con los peces que ingirieron un probiótico comercial o con los que no recibieron ningún aditivo.

Según Quiñonez, (2008). afirma que al final de su experimento a los 120 días en tilapia en la etapa de alevín, obtuvo un peso promedio de los peces alimentados con alimento comercial + DO (DRYOIL® (aceite vitaminizado)) fue de $99,52 \pm 2,59$ g, los peces alimentados con alimento comercial + DO + mezcla probiótica (5×10^4 ufc/g) pesaron $97,26 \pm 3,12$ g, los peces alimentados con alimento comercial + mezcla probiótica (1×10^6 ufc/g) pesaron $96,64 \pm 4,52$ g, mientras que los peces alimentados con alimento comercial + DO + mezcla probiótica (1×10^7 ufc/g) pesaron $97,36 \pm 4,09$ g. no hubo diferencia significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$).

Entre los estudios realizados con tilapia utilizando bacterias ácido lácticas como probióticos se encuentra el de Poot (2001), quien aisló e identificó bacterias ácido lácticas del tracto intestinal de la tilapia nilótica bajo condiciones de cultivo. El género dominante encontrado en la microflora de la tilapia fue *Enterococcus*. De las bacterias ácido lácticas aisladas que obtuvo, *Enterococcus durans* presentó acción inhibitoria in vitro contra dos bacterias patógenas *Aeromonas hydrophila* y *Spingomonas paucimobilis*.

Palacios, *et al.* (2007), en una investigación realizada en el sábalo amazónico, el análisis de varianza ($p < 0,05$) demuestra que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Además la prueba de significancia de Tukey, ($p < 0,05$) estableció que el tratamiento donde se adicionó 2,0 g/kg de probiótico (*Bacillus* y *S. cerevisiae*) al concentrado comercial con 32% de proteína, presentó el mejor resultado con un incremento de 88,52 g/mes, en comparación al testigo donde no se adicionó probiótico obteniendo un incremento de apenas 76,57 g/mes.

Guevara *et al.* (2003) nos indican que en un estudio realizado en Colombia, en el que adicionaron probióticos a base de bacterias como *Bacillus* y *Lactobacillus* y levaduras del género *Saccharomyces*, al alimento extrudizado para tilapia roja en la fase de levante o engorde, demostraron que existió un efecto positivo, puesto que hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) para tratamientos con dosis de 6, 4, y 2 g respectivamente, donde el de mejor desempeño productivo fue el tratamiento con 6 g de probiótico para las variables: incremento de peso, longitud estándar final y conversión alimenticia final, en comparación con el control o testigo que no fue aplicado probiótico, esto sustenta que la utilización de probióticos es viable en el cultivo de tilapia.

Palacios, *et al.* (2007), En un estudio realizado concluye que el incremento de peso mensual y diario promedio y la ganancia de peso al final del estudio del análisis de varianza ($p < 0,05$) demuestran que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Además la prueba de significancia de Tukey, ($p < 0,05$) estableció que el tratamiento T₁ donde se adicionó 2,0 g/Kg de probiótico al concentrado comercial con 32% de proteína, presentó el mejor resultado con un

incremento de 88,52 g/mes, en comparación con el tratamiento testigo de 76,57 g/mes, el tratamiento T₂ con 84,83 g/mes y el tratamiento T₃ con 82,41 g/mes.

2.9. MEZCLAS PROBIÓTICAS

El uso de mezclas probióticas son más efectivas que las cepas independientes en el control de patógenos, y en el mejor establecimiento de poblaciones probióticas, observándose procesos sinérgicos entre cepas que han potenciado los resultados deseados (Douillet, 2000).

2.10. TIPOS DE PROBIÓTICOS

El primer probiótico usado comercialmente ha sido una cepa no patógena de *Vibrio alginolyticus*, que ya desde 1992, ha permitido mejorar sustancialmente el rendimiento en viveros de camarones en Ecuador y México (Verschuere *et al.* 2000).

Los vibrios son bacterias gram-negativas, que poseen forma de bacilos rectos o curvos; se presentan en medios anaeróbicos y poseen características quimiorganotróficas que les permite tener un metabolismo de tipo respiratorio y fermentativo; su crecimiento es estimulado por iones de sodio para la mayoría de las especies y su temperatura óptima de crecimiento varía entre 20 y 30 °C (Bergey, 1994).

Uno de los géneros más empleados es *Bacillus subtilis* las cuales son bacterias gram-positivas que se caracterizan por su forma bacilar, poseen una habilidad fisiológica para resistir al calor, pH y salinidad extremas y pueden ser aeróbicos o anaeróbicos facultativos (Bergey, 1994). Otra de sus características es la de reducir el número de patógenos por su capacidad de competencia y secreción de enzimas contra bacterias gram-negativas, logrando evitar una propagación en las especies cultivadas (Wang *et al.* 2000; Irianto y Austin, 2002). Su propiedad de formar esporas le permite adherirse al alimento seco con facilidad (Moriarty, 1999) y su habilidad de degradar materia orgánica y reciclar nutrientes permite mejorar la calidad del agua en el medio de cultivo (Moriarty, 1999; Bergey, 1994).

Actualmente en Ecuador, el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM) dispone de varias cepas probióticas seleccionadas, *Vibrio alginolyticus* (Aguayo, 2001) *Vibrio hepatarius* (Thompson *et al.* 2004) y *Bacillus sp.* (Gullian *et al.* 2003).

2.11. SELECCIÓN DE LAS CEPAS CANDIDATAS A PROBIÓTICOS

La selección de cepas de bacterias individuales como probióticos para la acuicultura es un proceso complejo, ya que el conocimiento que se tiene de la interacción entre las bacterias con el intestino de los peces es escaso. Investigaciones recientes sugieren que los probióticos deben ser seleccionados de manera específica de los hospederos en los cuales se van a usar, ya que de esta manera se minimizan los efectos provocados por las amplias diferencias entre los ambientes en los que se desarrollan los organismos (Duwat *et al.* 2000).

Las cepas deben ser estables en el almacenamiento y permitir su producción en grandes volúmenes. La experimentación a escala comercial es definitiva y no debemos conformarnos con mejorar supervivencia, sino que es importante que el crecimiento y la ganancia de peso no se vean afectados. Si la cepa es adecuada, el paso siguiente sería la evaluación económica del probiótico a escala comercial (Gómez *et al.* 1998).

2.12. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

La capacidad de los probióticos para ejercer su acción depende fundamentalmente de la exactitud con la que alcancen el lugar específico donde deben actuar y en el que ejercerán su poder inhibitorio (Verschuerer *et al.* 2000). También tienen que presentar diversos modos de acción por los cuales ejercen efectos positivos en el hospedero como son:

- Competencia por compuestos químicos o por energía disponible (Sullivan, 2001)

- Competencia por los sitios de adhesión con respecto a los microorganismos patógenos (Andlid, 1995).
- Producción de compuestos que inhiben el desarrollo de otros microorganismos, (Naidu *et al.*, 1999), tales como las bacteriocinas. (Samaniego y Sosa, 2002).

Estos mecanismos pueden presentarse de manera individual o en conjunto, pero las consecuencias en el huésped serán normalmente la supresión de microorganismos patógenos, alteración del metabolismo bacteriano y estimulación del sistema inmunológico.

2.12.1. Producción de compuestos inhibidores

Naidu *et al.* (1999), afirma que algunas cepas de bacterias producen sustancias bactericidas o que tienen un efecto bacteriostático, que afecta el desarrollo y crecimiento de otros microorganismos. Estas cepas pueden alterar la relación entre el grupo de bacterias presentes, ya que influyen en la competencia por la disponibilidad de energía y sustancias químicas. La presencia de microorganismos que producen sustancias inhibitorias de microorganismos en el intestino, constituyen una barrera en contra de la proliferación de patógenos oportunistas. (Samaniego y Sosa, 2002) indican que dentro de los compuestos inhibidores del grupo de las bacteriocinas se encuentran las siguientes sustancias:

- Lactacin ByF
- Helveticin V-1829
- Fermenticin
- Sakacin A,M y P
- Lacticinas A y B

En organismos acuáticos se han realizado varios estudios en los que se ha demostrado la presencia de cepas bacterianas que presentan inhibición *in vitro* contra patógenos conocidos (Bruno y Montville, 1993; Naidu *et al.* 1999; Bjorn *et al.* 2003), sin embargo no se ha demostrado la producción de compuestos inhibitorios bajo

condiciones in vivo y la relevancia ecológica en la producción de compuestos inhibitorios contra otras bacterias también se desconoce.

Aguirre, (1994) señala que ciertas cepas probióticas (*Lactobacillus acidophilus*) actúan en base a su capacidad de producir sustancias antimicrobianas capaces de combatir bacterias enteropatógenas como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium*; hoy en día, algunas cepas han sido modificadas genéticamente para atacar a un género específico de bacteria patógena como el género *Vibrio* (Austin *et al.* 1995).

2.12.2 Competencia por compuestos químicos o por energía disponible

Entre los microorganismos existe competencia por los nutrientes que hay en el medio y por ende por la energía que pudiera obtenerse de estos. Un compuesto químico importante para la mayoría de los microorganismos es el hierro, ya que las principales funciones reguladas por este elemento en las bacterias son aquellas que involucran la asimilación del mismo. Los organismos secretan sideróforos, agentes hierro-específicos de bajo peso molecular que permiten la disolución del hierro precipitado y lo hacen disponible para el crecimiento de los microorganismos. En un ecosistema, los colonizadores dominantes presentan sistemas más avanzados de sideróforos – hierro que les permite inhibir el crecimiento de otros microorganismos privándolos de este elemento (Sullivan, 2001).

2.12.3 Competencia por sitios de adhesión

La habilidad de adhesión a la mucosa entérica y paredes intestinales es necesaria para que una bacteria se establezca en el tracto gastrointestinal de los peces (Andlid, 1995). Durante la utilización de bacterias probióticas, la adhesión es importante para que la colonización por parte de estas bacterias se lleve a cabo y de esta manera inhiban la fijación y proliferación de bacterias patógenas dentro del intestino. Este fenómeno se conoce como exclusión competitiva (Wang *et al.* 2000; Gatesoupe 1999) y si esto no se lleva a cabo, las bacterias benéficas se consideran como microorganismos en tránsito y se eliminan junto con las heces sin haber ejercido su función probiótica de manera adecuada (Gatesoupe, 1999).

2.13. EFECTOS BENÉFICOS DE LOS PROBIÓTICOS

Dentro de un medio de cultivo en el campo acuícola, los probióticos pueden beneficiar de muchas maneras tanto a los peces sembrados y/o al sistema como tal.

Los probióticos pueden mejorar la actividad digestiva de los organismos por síntesis de vitaminas, cofactores, mejoramiento de la actividad enzimática y absorción de nutrientes (Gatesoupe, 1999; Ziemer y Gibson, 1998). Esta propiedad puede ser la causa por la cual exista un incremento de peso en los organismos expuestos a este tipo de bacterias pero pueden proporcionar diferentes resultados según las diferentes condiciones de cultivo (Gullian *et al.* 2003).

Moriarty (1999), señala que con el uso de probióticos en acuicultura; la salud de los animales mejora por la remoción o disminución de la densidad de población de patógenos, mejorando la calidad del agua a través de una degradación más rápida de la materia orgánica. Por otra parte en el caso de ciertas cepas (*Bacillus sp. V. alginolyticus*) ha permitido tener en los animales un índice inmunitario mayor respecto al tratamiento control (Gullian, *et al.* 2003).

2.14. DESVENTAJAS DE LOS PROBIÓTICOS

Calero (2006) afirma que es cierto que los probióticos no tienen el efecto químico-terapéutico, si es posible que el abuso y su uso anti-técnico (promovido por la comercialización excesiva) puedan a corto o mediano plazo crear regulaciones y prohibiciones en su uso. Es recomendable mantenerse constantemente informados sobre la clasificación y origen de los microorganismos del probiótico utilizado.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Ubicación Política

La investigación se realizó en la Finca EL BOSQUE, km 9 Vía a Julio Moreno, Área Acuicultura, Propiedad del Sr. Ángel López, ubicado en la Provincia Santo Domingo de los Tsáchilas, Parroquia San Gabriel del Baba, Cantón Santo Domingo.

3.1.2. Ubicación de laboratorio:

Laboratorio de la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias, ESPE-Santo Domingo, km 35 Vía a Quevedo.

3.1.3. Ubicación Geográfica

Coordenadas UTM: Este 0706891 Norte 9965691

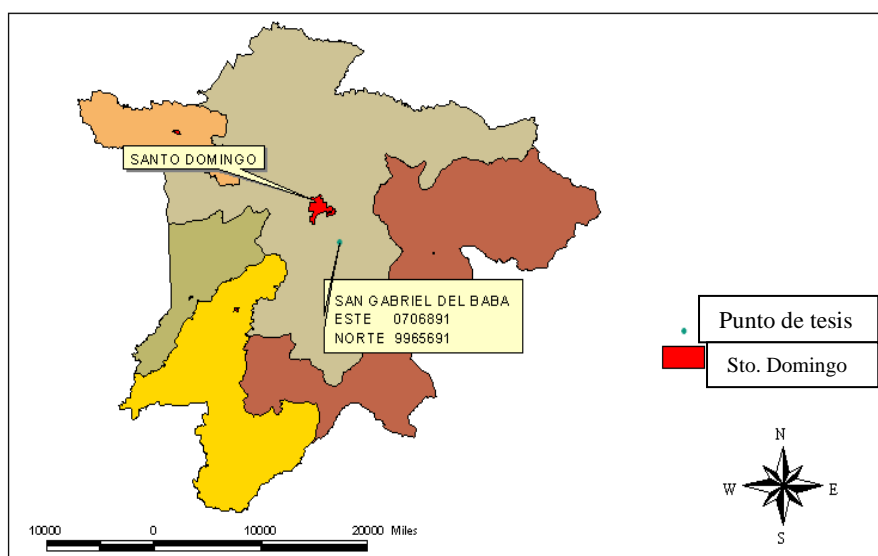


Figura 2. Croquis de ubicación geográfica, de Santo Domingo

Fuente; Servirtual, 2007

3.1.4. Ubicación Ecológica

Según el diagrama de Zonas de Vida de L. Holdridge la zona de estudio corresponde a un Bosque Húmedo Tropical (bh – T) (Cañadas, L. 1983) cuyas características son:

- Altitud : 501 msnm.
- Temperatura : 23 °C
- Precipitación : 1 750 mm/año
- pH : 6,5 – 7,0
- Textura : Arcillosa
- Estructura : Granular

3.2. MATERIALES

3.2.1. Laboratorio

3.2.1.1. Equipos

Cuadro 3. Equipos utilizados en laboratorio

Equipo	Unidad	Cantidad
Estufa bacteriológica	und	1
Microscopio compuesto	und	1
Cámara flujo laminar	und	1
Balanza analítica	und	1

Fuente: Los autores

3.2.1.2. Materiales y reactivos

Cuadro 4. Materiales y reactivos a utilizar en laboratorio

Equipo	Unidad	Cantidad
Cajas petri	und	100
Test enzimático	und	1
Porta objetos	und	10
Tubos de ensayo	und	20
Pipeta	und	2
Vasos de precipitación	und	2
Sustrato de Manitol	g	1000
Sustrato de Muller Hilnton	g	1000
Sustrato de Sabouround	g	1000
Sustrato Agar Plate	g	1000
Sustrato de harina de pescado	g	2000
Papel parafina	rollo	1

Fuente: Los autores

3.2.2. Campo

3.2.2.1. Insumos

Cuadro 5. Insumos utilizados en el campo

Equipo	Unidad	Cantidad
Peces de tilapia roja	und	135
Balanceado engorde (38%)	gr	21848,04
Probiótico comercial	gr	62,32
Probiótico nativo	gr	68,77
Agua	m ³	240
Melaza	litros	20

Fuente: Los autores

3.2.2.2. Materiales y Equipos

Cuadro 6. Materiales y equipos utilizados en el campo

Equipo	Unidad	Cantidad
Red de pesca (Atarraya)	Und	1
Tanques plásticos de 550 litros	Und	15
Tinas	Und	3
Manguera de ¾	M	200
Balanza electrónica	Und	1
Cinta para medir el pH	Und	1
Termómetro	Und	1
Instrumento para medir oxígeno	Und	1
Bomba de agua (1 HP)	Und	1
Ictiómetro	Und	1

Fuente: Los autores

3.2.2.3. Instrumentos

Cuadro 7. Instrumentos utilizados en el campo

Equipo	Unidad	Cantidad
Computadora	und	1
Registro de campo	und	1
Libreta de campo	und	1
Esferográficos	und	3
Papel Bond	und	100

Fuente: Los autores

3.2.2.4. Herramientas

Cuadro 8. Herramientas utilizadas en el campo

Equipo	Unidad	Cantidad
Machete	und	2
Flexómetro	und	1
Baldes plásticos 12 litros	und	5

Fuente: Los autores

3.3. MÉTODOS

3.3.1. FASE DE LABORATORIO

3.3.1.1 Recolección de muestras

Se seleccionó un pez de 600 gramos en buen estado de salud para obtener los microorganismos benéficos con los cuales se elaboró el probiótico nativo. De este pez se seleccionaron muestras del estomago, intestino delgado e intestino grueso.

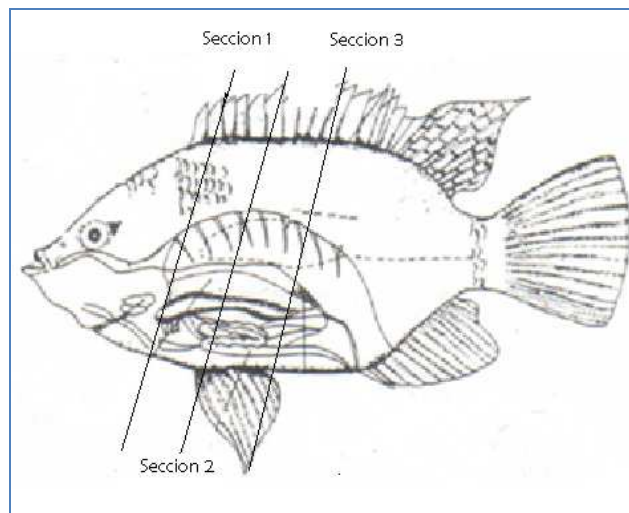


Figura 3. Secciones de extracción de las muestras

Fuente:: Colpos, 2005

3.3.1.2. Siembra en los medios de cultivo

De cada una de las partes seccionadas se tomó una muestra de la parte interna mediante un frotis. Las muestras obtenidas se colocaron en tubos de ensayo conteniendo 10 ml de solución de suero fisiológico, estas se llaman soluciones madre (figura 4).



Figura 4. Soluciones madre

Fuente: Los autores

- Posteriormente estas soluciones madre se prepararon en diluciones de título 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} 10^{-4} de cada una de las secciones, las mismas que se sembraron en cajas petri conteniendo el medio de cultivo: Manitol, Muller Hilnton y Sabouround.

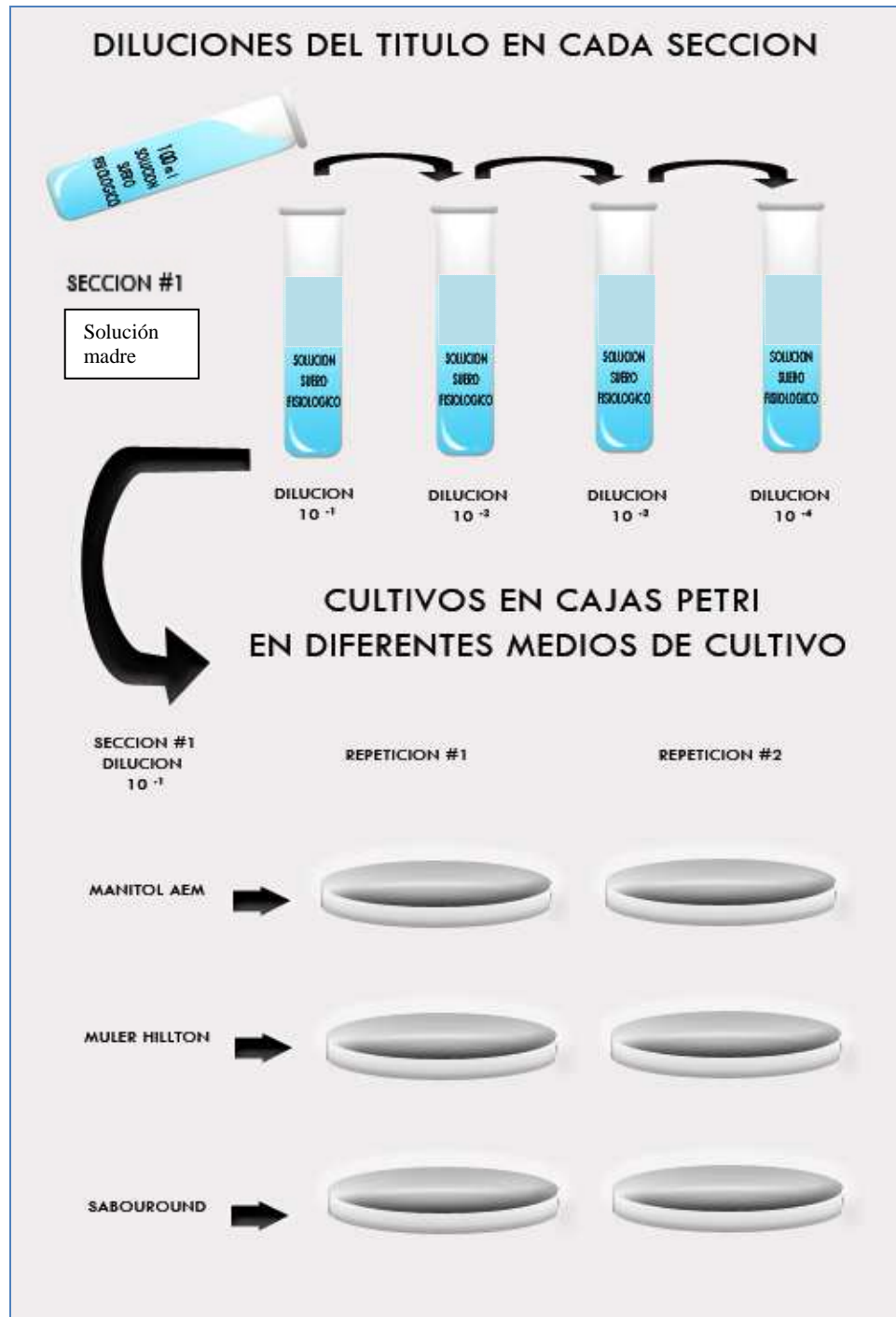


Figura 5. Dilución de muestras y siembra de las mismas en cajas petri

Fuente: Los autores

- Se realizó seis siembras diferentes por dilución y por cada muestra obtenida de las secciones, teniendo un total de 72 siembras las mismas que se incubaron en una estufa bacteriológica a 28 °C por 72 horas.

3.3.1.3. Purificación de colonias

Para su identificación se procedió a purificar las cepas de *Bacillus* y *Saccharomyces*.

3.3.1.4. Identificación de cepas nativas

Para la identificación se utilizaron pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares.

3.3.1.5. Concentración de bacterias

Para determinar la concentración de bacterias se utilizaron las placas Petrifilm 3M y se enviaron muestras al laboratorio Concepto Azul, para determinar la concentración.

3.3.1.6. Formulación del probiótico

a) Preparación de los soportes de sostén

Para la preparación de los soportes utilizamos la metodología desarrollada por Saavedra y Peralvo (2006). Para la producción y formulación de biopesticidas.

b) Adquisición de soportes

Se escogieron tres soportes como base de estudio para determinar cual es el de mayor establecimiento para los microorganismos. Se utilizó harina de pescado y harina de soya las cuales se obtuvieron de un proveedor de materias primas para balanceados. También se utilizó tierra de montaña la misma que se obtuvo de una finca cercana al proyecto.

c) Secado y eliminación de impurezas

Se procedió a secar las muestras al ambiente dentro del laboratorio. Luego se eliminó todo tipo de impurezas, en el caso de la tierra de montaña se eliminó raíces, piedras y restos vegetales. En el caso de de las harinas se retiró grumos y pequeñas impurezas.

d) Molienda y tamizado

Se realizó una molienda a los tres soportes para que las partículas sean de un tamaño adecuado, seguido de este proceso también se procedió a tamizar (200 mesh) con el objetivo de obtener soportes más homogéneos y con el fin de que los microorganismos se puedan establecer con facilidad.

e) Empacado y esterilización

- Para el empacado de los soportes se utilizaron fundas de polietileno de baja densidad.
- Por cada soporte se preparó 800 g de producto, los cuales fueron repartidos en cuatro fundas con 200 g cada una, luego de esto fueron etiquetadas con la información correspondiente, posteriormente se colocaron las fundas en envolturas de papel periódico para su respectiva esterilización en el autoclave a 121 °C por 15 minutos.

3.3.1.7. Preparación del inóculo bacteriano

a) Preparación de caldos de cultivo líquidos de 72 horas (inóculo para fundas)

- Primero se realizó la preparación del medio líquido (MRS), el cual se lo obtuvo colocando 55 gr de MRS en un litro de agua, para lo cual se utilizó una varilla de vidrio para disolver homogéneamente el producto, posteriormente

se hirvió durante un minuto, seguido a esto se esterilizaron a 121 °C por 15 minutos.

- A partir de los aislados puros, que fueron almacenados en refrigeración, se realizaron suspensiones bacterianas y suspensiones con levaduras, colocándolos en una solución salina de 10 ml para cada uno, realizando un frotis con un isotopo a las colonias puras contenidas en las cajas petri.
- Con estas suspensiones se inocularon por separado la bacteria y la levadura al medio MRS, con una relación de 5 ml. por ½ litro de producto. Una vez obtenido el caldo de cultivo bacteriano y el caldo de cultivo con levaduras, se colocaron en la estufa para permitir la multiplicación adecuada de microorganismos, durante 72 horas para alcanzar el pico más alto y adecuado de concentración, esto se verificó mediante un examen de laboratorio, en el que se obtuvo una concentración de $4,8 \times 10^6$ ufc/g para las bacterias y de $6,6 \times 10^6$ ufc/g para las levaduras. Este resultado obtenido del laboratorio (Anexo 2) fue comparado con el que se realizó en laboratorio con la ayuda de las placas petrifilm donde se obtuvo un rango similar que fue de 1×10^8 ufc/g para los 2 microorganismos, indicando que estas concentraciones son altas y adecuadas para inocular los soportes.
- La cantidad de caldo de cultivo fue preparada lo suficiente como para realizar la selección del soporte y para la inoculación definitiva al soporte seleccionado.

b) Inoculación y Selección del soporte adecuado

- Se efectuó un estudio para determinar el soporte más adecuado para el desarrollo de la bacteria *Bacillus subtilis* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
- Se inoculó en los tres soportes los cuales fueron; Harina de Pescado, Harina de Soya y Tierra de Montaña, con los caldos de cultivo bacterianos y de levaduras a una relación de 70 ml de caldo para 100 g de soporte ,es decir que para cada funda de 200 g de soporte colocamos 140 ml de caldo.

c) Inoculación definitiva al soporte seleccionado.

- Por los resultados obtenidos se escogió la Harina de pescado como soporte para inocular el caldo de cultivo bacteriano y el caldo de cultivo con levaduras.
- Esta inoculación se realizó como se detalló anteriormente colocando 70 ml por cada 100 g de soporte. La inoculación del soporte se efectuó en fundas Ziploc, con el objetivo de tener una mejor manejabilidad del producto final (biopreparado).
- La cantidad producida del biopreparado (probiótico nativo) fue suficiente para cubrir todo el ciclo de alimentación de la tilapia.

d) Maduración y almacenamiento del preparado

- La fase de maduración consistió en incubar en la estufa los biopreparados a 28°C durante ocho días. También se realizó cada tres días una homogenización de forma manual para lo cual se evitó el daño a la funda que la contiene.
- Los biopreparados (probióticos nativos) se los almacenó a una temperatura de 2-8 °C colocados dentro de fundas negras para causar un efecto de oscuridad en la refrigeradora, con el fin de mantener la viabilidad de las bacterias y hongos.
- Para la utilización en campo se colocó en partes iguales cada biopreparado de bacterias y levaduras.

3.3.2. Diseño Experimental

3.3.2.1. Factores a probar

- Sp : Sin probiótico
- Pc: Probiótico comercial
- Pn: Probiótico nativo contiene: *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*

3.3.2.2. Tratamientos a comparar

Cuadro 9. Tratamientos a comparar en el ensayo

Tratamiento	Denominación	Código
T ₀	Alimento concentrado (balanceado) sin probiótico.	ASP
T ₁	Alimento concentrado con 6 gr de probiótico nativo /kg de balanceado	ACPN
T ₂	Alimento concentrado con 6 gr de probiótico comercial /kg de balanceado	ACPC

3.3.2.3. Tipo de diseño

- Para el desarrollo de la investigación se aplicó un diseño completamente al azar (DCA)

3.3.2.4. Observaciones

- En cada tratamiento se aplicaron cinco observaciones.

3.3.2.5. Características de las Unidades experimentales

- Para el ensayo de campo se utilizaron 135 tilapias en etapa juvenil con un peso promedio de 40 g \pm 5 g.
- El lugar donde se cultivaron los peces fue en tanques plásticos con una capacidad de 550 litros de agua.
- Para el ensayo se utilizó un total de 15 tanques, y en cada uno se colocaron nueve peces.
- Para cada tratamiento se utilizaron 45 peces.
- Se evaluaron el 100 % de los peces en cada tratamiento
- Se realizaron seis observaciones de peso, tamaño, conversión alimenticia, incidencia de enfermedades y mortalidad a todos los tratamientos, cada 20 días.

- El tiempo que duró la evaluación de los probióticos en campo, fue de 124 días.
- Área total de cada tratamiento 2,75 m³ (0,55 m³ x 5 repeticiones)

3.3.3. Análisis Estadístico

3.3.3.1. Esquema de análisis de varianza

DCA, con tres tratamientos y cinco repeticiones

Cuadro 10. Análisis de varianza para el ensayo

Fuentes de variación	Grados de libertad	
Tratamientos	t-1	2
Error experimental	t(r-1)	12
Total	(r*t)-1	14

3.3.3.2. Análisis funcional

- Para los tratamientos que mostraron diferencias significativas en el análisis de varianza, se aplicó la prueba de Tukey al 5% para comparar medias de tratamientos. Además se realizó la comparación entre Testigo vs. Probiótico nativo y Probiótico comercial, asimismo se comparó P. nativo vs P. comercial.

3.3.4. Variables a medir

3.3.4.1. Peso individual

- El peso se tomó cada 20 días, con un total de seis veces en los 124 días que duró el proyecto.
- Se obtuvo un peso promedio de las UE, en cada tratamiento.
- Se utilizó una balanza electrónica para evaluar el peso.
- El peso promedio se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Peso promedio (gr)} = \frac{\text{Peso total de la observación (g)}}{\# \text{ peces}}$$

3.3.4.2. Mortalidad

- Se registró diariamente durante los 124 días, contando la cantidad de animales muertos, en todos los tratamientos.
- Se llevó un registro de todas las UE.
- Se obtuvo el porcentaje de sobrevivencia, en base a la diferencia entre animales vivos y muertos, utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Sobrevivencia} = \frac{\# \text{ de peces vivos}}{\# \text{ de peces sembrados}} \times 100$$

3.3.4.3. Conversión alimenticia

- Se realizó una comparación entre el alimento suministrado y la biomasa producida. Esto se realizó el mismo día que se evaluó el crecimiento.
- El método de alimentación de los peces fue al voleo.
- Este factor mientras más se acerque a la unidad, mejores son los índices productivos. Se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Conversión} = \frac{\text{alimento consumido}}{\text{ganancia de peso}}$$

3.3.4.4. Incidencia de enfermedades

- Se observó la incidencia de enfermedades en las tilapias estudiadas.
- Para evaluar este parámetro se consideró si el animal presenta o no algún síntoma y se verificó el tipo de agente causa la enfermedad
- El instrumento de medición fue la observación.
- Para obtener el porcentaje de incidencia de enfermedades se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Incidencia} = \frac{\# \text{ Peces enfermos}}{\# \text{ Peces sanos}} \times 100$$

3.3.4.5. Tamaño

- La medición fue cada 20 días, al igual que en el peso, se realizaron seis observaciones.
- Las mediciones se realizó el mismo día de la medición del peso.
- Utilizando una regla, se midió longitud total y el alto del pez.
- La unidad de medida fue milímetro (mm).
- Se obtuvo una medida promedio en cada tratamiento
- Para obtener el promedio de medida de cada tratamiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Medición promedio} = \frac{\text{Medición total de la observación}}{\# \text{ Peces}}$$

3.3.4.6. Análisis microbiológico

Al culminar la fase de campo se enviaron muestras al laboratorio Concepto Azul para determinar la concentración de bacterias y levaduras después de suministrarles en la dieta.

3.3.5. Métodos Específicos del Manejo del Experimento

3.3.5.1. Preparación del área de ensayo y arreglo de los tanques

- Se realizó la limpieza y arreglo de la zona donde se instaló el ensayo, a través de una chapia y una nivelación del terreno para la ubicación de los tanques.

- Se colocó una bomba de agua sumergible para el abastecimiento de los tanques conjuntamente se colocaron las acometidas de agua, desde la bomba hacia el área de ensayo con una manguera de una pulgada de diámetro.
- Para la circulación del agua en los tanques se realizó un sistema de entrada de agua similar a un sistema de riego, donde el agua ingresaba a través de mangueras que pendían sobre los tanques las cuales se encontraban con una perforación de 5 mm de diámetro para la entrada.
- Para completar el sistema de circulación de agua dentro de los tanques, se realizó un sistema de desagüe colocando dos tubos de pvc de diferente largo y diámetro, en donde un tubo de ¾” x 0,6 m de largo, se conecto con la boca de salida del tanque y para que desfogue primero el agua de mala calidad que se va acumulando en el fondo, se colocó otro tubo de aproximadamente 50 mm x 0,8 m sobre el tubo de ¾”. Esto se realizaron para todos los 15 tanques.
- Se colocaron mallas plásticas sobre los tanques para evitar la entrada de cualquier tipo de animal, especialmente aves.
- Los tanques fueron ubicados de acuerdo a la orientación del sol.
- Se ubicó la respectiva identificación en cada tanque, de acuerdo a cada tratamiento.
- La limpieza de los tanques se realizó manualmente con la utilización de una escoba y franela, con el fin de eliminar los residuos existentes (alimento no consumido, mohos, y otros elementos no deseados, etc.) se realizo en cada evaluación de los peces, cada 20 días.

3.3.5.2. Recepción de peces

- Las tilapias se recibieron en tanques plásticos los cuales fueron traídos desde una granja de la misma zona llamada Finca Fernanda.
- Antes de ingresar los peces a cada tanque se registró el peso, largo y alto de cada una de las tilapias que se fueron colocando en cada tanque. Se obtuvo un peso global promedio de tilapias de aproximadamente 40 g un alto global promedio de 40 mm y un largo global promedio de 150 mm.
- La cantidad de tilapias fue la misma en cada tratamiento, es decir nueve peces por tanque, con total de 135 peces.

- Se observó durante aproximadamente tres horas, a fin de que no exista algún tipo de anomalía.

3.3.5.3. Alimentación y Protocolo del probiótico

- Después de tres horas aproximadamente, se colocó la primera ración de alimento.
- Para calcular la cantidad de balanceado se tomó en cuenta el porcentaje de la biomasa total, que fue inicialmente del 7 % de acuerdo a la tabla de Pronaca, (Cuadro 1), y fue cambiando según el incremento de peso.
- Se colocó el alimento con los probióticos durante 124 días que duró el proyecto.
- La dosis del probiótico comercial y nativo fue de seis gramos por cada kg de balanceado.
- El protocolo de los probióticos fue el siguiente; Se activó el día anterior las bacterias colocándolas en una relación 5:2 Agua-Melaza, esto tomado de una relación de cinco litros de agua mas dos litros de melaza para un saco de balanceado de 40 kg, y se llevó esta relación para 1 kg, colocando 125 cc de agua 50 cc de melaza y 6 g de bacterias.
- Al siguiente día se realizó la mezcla de agua-melaza-probiótico con el balanceado y se homogenizó toda la ración. Luego los alimentamos y el producto sobrante lo guardamos en la refrigeradora a una temperatura 4⁰C.
- Este procedimiento se lo realizó tanto para el probiótico nativo como para el probiótico comercial.
- Cada ración que se suministró diariamente se la dividió en tres porciones de acuerdo al siguiente horario de alimentación: (25%) 8H30, (40%) 14H30, (35%) 17H00.

3.3.5.4. Medición de parámetros básicos del agua (pH, temperatura y oxígeno)

- Esta medición se realizó en cada tanque diariamente por las mañanas, durante todo el desarrollo del proyecto.

- La medición se efectuó con los instrumentos adecuados de medición.
- Se evaluó al azar cualquier zona del tanque.
- Se anotó información como pH y temperatura en los registros, para ver las condiciones con las que cuenta el agua de cada tanque.

3.3.5.5. Medición de las variables

- La medición del peso se lo realizó con una balanza electrónica, la cual fue medida en gramos. La medición del largo como alto de la tilapia, se realizó con una regla, estos datos fueron tomados cada veinte días en seis ocasiones.

3.3.5.6. Manejo General

- Se determinó los parámetros físicos y químicos de los tanques diariamente.
- Se inspeccionaron que exista un normal funcionamiento de la entrada de agua (oxigenación) dentro de los tanques.
- En los tanques se controlaron la existencia de peces muertos.
- También se suministraron alimento dependiendo de cada tratamiento.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. FASE DE LABORATORIO

4.1.1. Identificación de Cepas Nativas

Con los microorganismos aislados de las tilapias se realizaron pruebas morfológicas y bioquímicas, realizadas en el laboratorio de la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias, Santo Domingo de los Tsáchilas, y pruebas moleculares en el laboratorio Concepto Azul de la ciudad de Guayaquil, con el objetivo de caracterizarlas y de estas pruebas se obtuvieron los siguientes resultados:

4.1.1.1. Caracterización morfológica

Cuadro 11. Pruebas morfológicas de los géneros *Bacillus* y *Saccharomyces*

Género	Forma	Tamaño	Color	Superficie	Tinción	Colonia
<i>Bacillus</i>	Bacilar	3 μ	Crema	Plana	Positiva	Cadenas
<i>Saccharomyces</i>	Oval	10-50 μ	Crema	Lisa	-	Cadenas

4.1.1.2. Caracterización bioquímica

Cuadro 12. Prueba Bioquímica del género *Bacillus*

Genero	Catalasa	Gelatinasa
<i>Bacillus</i>	Positivo	Positivo

4.1.1.3. Caracterización molecular

Las cepas nativas de *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae* se enviaron al Laboratorio Microbiología y Control de Calidad Concepto Azul, para complementar la caracterización a nivel de especie por medio de los fragmentos amplificados del gen 16SrRNA, para las bacterias y 26rRNA para las levaduras.

La secuenciación de la cepa bacteriana *Bacillus*, permitió analizar una secuencia de 1345 pares de bases, la cual mostró tener similitud de un 100% de *Bacillus subtilis* (Anexo. 1).

La secuenciación de la cepa *Saccharomyces*, permitió analizar una secuencia de 551 pares de bases, la cual tuvo un 100 % de similitud con *Saccharomyces cerevisiae* (Anexo 1).

4.1.2. Formulación del Probiótico

Para la formulación del probiótico en los soportes sólidos se realizó previamente una evaluación de la concentración. Para *Bacillus subtilis* se obtuvo $4,8 \times 10^6$ y para *Saccharomyces cerevisiae* fue de $6,6 \times 10^6$, lo cual permitió formular un probiótico con microorganismos viables en la dieta para tilapias (Anexo 2).

Luego de la evaluación previa se inoculó en los soportes sólidos los microorganismos nativos, obteniendo que el mejor establecimiento se dio en Harina de pescado con concentraciones de $8,3 \times 10^8$ ufc/g, para *Bacillus subtilis* y $3,4 \times 10^8$ ufc/g para *Saccharomyces cerevisiae* (Anexo 3).

4.1.3. Concentración de bacterias y levaduras en el sistema digestivo de la tilapia

Los resultados de concentración de microorganismos a los 124 días después de la evaluación en campo se muestran en el Anexo 7, de los cuales se desprende que al comparar con las concentraciones iniciales se reduce de forma mínima, teniendo valores finales de concentración como $4,7 \times 10^7$ para bacterias y levaduras $4,9 \times 10^6$.

4.2. FASE DE CAMPO

Los resultados de las variables que se evaluaron, fueron:

4.2.1. Ganancia de Peso

Para esta variable, el ADEVA (Cuadro 13) establece que existen diferencias significativas, para los tratamientos y error experimental a partir de los 40 días de evaluación, mientras que para los contrastes a los 20 días de evaluación no existe

diferencia estadística significativa, pero si existe diferencia para los demás días de evaluación ya que los probióticos nativos y comercial son distintos al testigo y en el contraste probiótico nativo Vs el comercial son diferentes a partir de los 40 días.

Cuadro 13. ADEVA para medir el efecto de diferentes probióticos nativo y comercial a los 20, 40, 60, 79, 102, y 124 días sobre el peso de la tilapia en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS					
		20 DIAS	40 DIAS	60 DIAS	79 DIAS	102 DIAS	124 DIAS
TRATAMIENTOS	2	17,05 ^{ns}	216,51*	1087,31*	2701,59*	5515,42*	8778,58*
TESTIGO VS PN,PC	1	1,38 ^{ns}	266,89*	1108,14*	3449,05*	8542,97*	14689,89*
PN VS PC	1	32,72 ^{ns}	166,14*	1066,47*	1954,12*	2487,88*	2867,26*
ERROR	12	23,25	26,77	19,37	28,65	27,62	27,02
TOTAL	14						
CV		7,61	5,48	3,24	2,95	2,19	1,76

Al observar los rangos de significancia (Cuadro 14) se aprecia que a los 20 días de evaluación no existió diferencia estadística, a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación si existió diferencia estadística con respecto al testigo, es decir que los tratamientos son diferentes.

Cuadro 14. Medias y rangos de significancia de la variable peso.

Tratamiento	EVALUACION EN DIAS											
	20		40		60		79		102		124	
T ₀	63,80	a	88,4	b	123,88	c	159,83	c	205,69	c	250,25	c
T ₁	64,97	a	101,43	a	152,44	a	205,98	a	272,09	a	333,57	a
T ₂	61,35	a	93,27	ab	131,79	b	178,02	b	240,54	b	299,7	b
E. experimental	23,246		26,769		19,370		28,646		27,620		27,017	

Lo anterior concuerda con investigaciones realizadas por Palacios, *et al* (2007) quien concluye que la ganancia de peso al final del estudio demuestra que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y de la misma manera la prueba de significancia de Tukey, ($p < 0,05$) estableció que el tratamiento T₁ donde se adicionó 2,0 g/kg de probiótico al concentrado comercial con 32% de proteína, presentó el mejor resultado con un incremento de 88,52 g/mes, en comparación con el tratamiento testigo de 76,57 g/mes, el tratamiento T₂ con 84,83 g/mes y el tratamiento T₃ con 82,41 g/mes.

Se puede observar en el Cuadro 14, que con los probióticos nativo y comercial se obtiene mejor ganancia de peso frente al testigo y esto concuerda con Guevara *et al.* (2003) que indica en un estudio realizado en Colombia, en el que adicionaron probióticos a base de bacterias como *Bacillus*, *Lactobacillus* y levaduras del género *Saccharomyces*, al alimento extrudizado para tilapia roja en la fase de levante o engorde, demostraron que existió un efecto positivo, puesto que hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) para tratamientos con dosis de 6, 4, y 2 g respectivamente, donde el de mejor desempeño productivo fue el tratamiento con 6 g de probiótico para las variables: incremento de peso, longitud estándar final y conversión alimenticia final, en comparación con el control o testigo que no fue aplicado probiótico, esto sustenta que la utilización de probióticos es viable en el cultivo de la tilapia.

Estos resultados de crecimiento en peso y supervivencia son similares a los encontrados por Lara *et al.* (2003) en *Oreochromis niloticus* alimentada con *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Streptococcus faecium* adicionadas en el alimento, obteniendo resultados positivos con la mezcla probiótica utilizada de 4 g/kg de concentrado. El-Haroun *et al.* (2006) observaron un beneficio en *O. niloticus* cultivada y alimentada con una dieta con el probiótico comercial (6 g/kg alimento) Biogen® constituido a base de *Bacillus* sp. y *Lactobacillus* sp. en comparación con el control (sin probiótico) y se afirma con lo propuesto en esta investigación.

En la Figura 6, se analizan los resultados del efecto que producen los probióticos nativo y comercial en el peso para tilapias a partir de los 40 días de evaluación donde existió diferencia significativa. El T₁ presentó ser mucho más eficiente en consumo de alimento y producción de carne con respecto a los demás tratamientos ya que obtuvo el mayor incremento de peso.

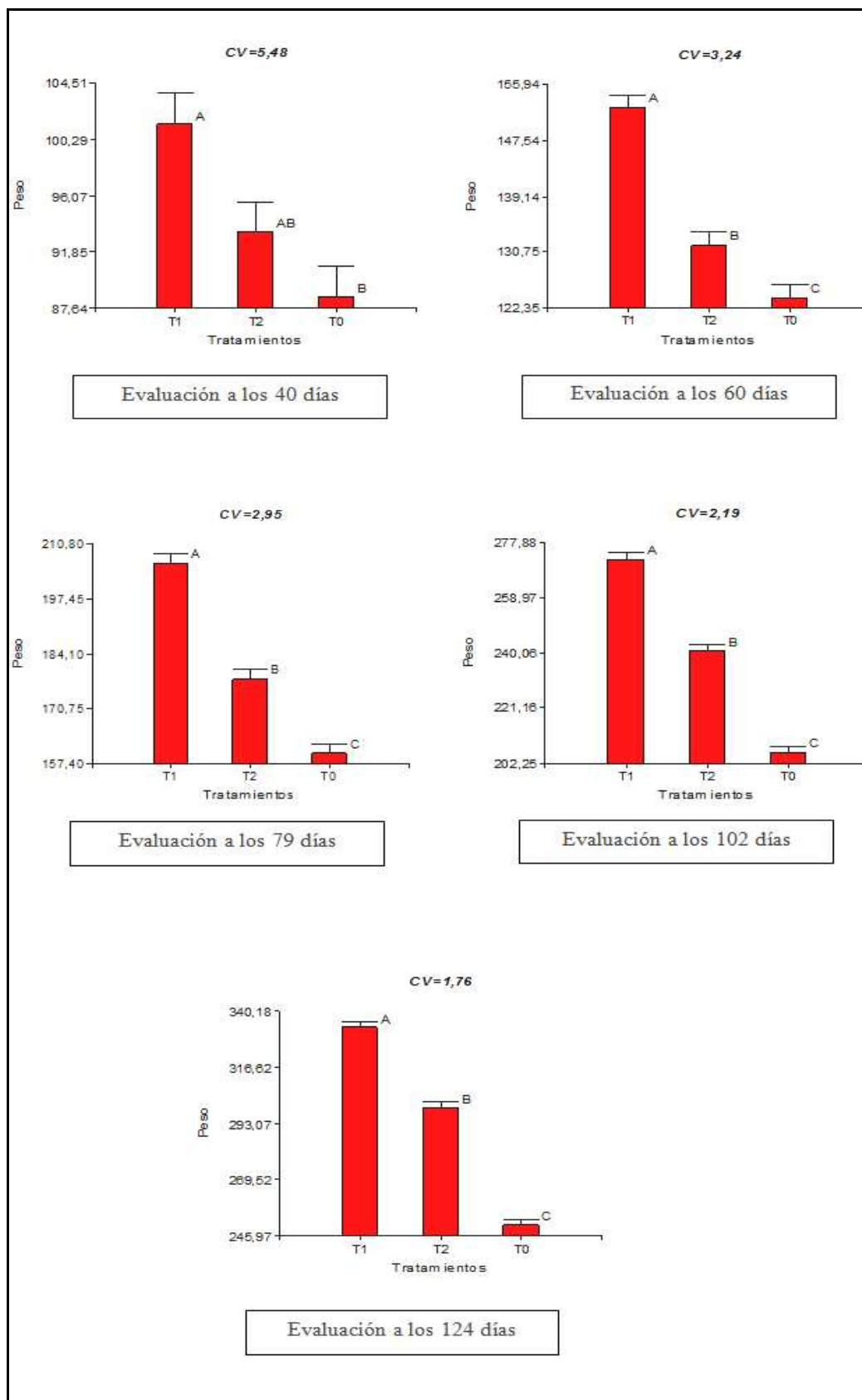


Figura 6. Medias de Tukey de la variable peso a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación en tilapias de engorde, Santo Domingo, 2010.

De igual manera presentó un coeficiente de variación bajo durante los 124 días evaluados y esto da confianza a los resultados obtenidos.

En la Figura 7, se observa la tendencia de ganancia de peso según los días de evaluación, donde se distingue que el T₁ (nativo) obtiene una mayor ganancia de peso desde el día 20 hasta el último día de evaluación frente a T₀ y T₂. El peso final del T₁ cuyo valor es 333,57 g fue más alto, mientras que en segundo lugar fue el T₂ con un valor de 299,7 g y en último lugar el T₀ con un valor de 250,25 g.

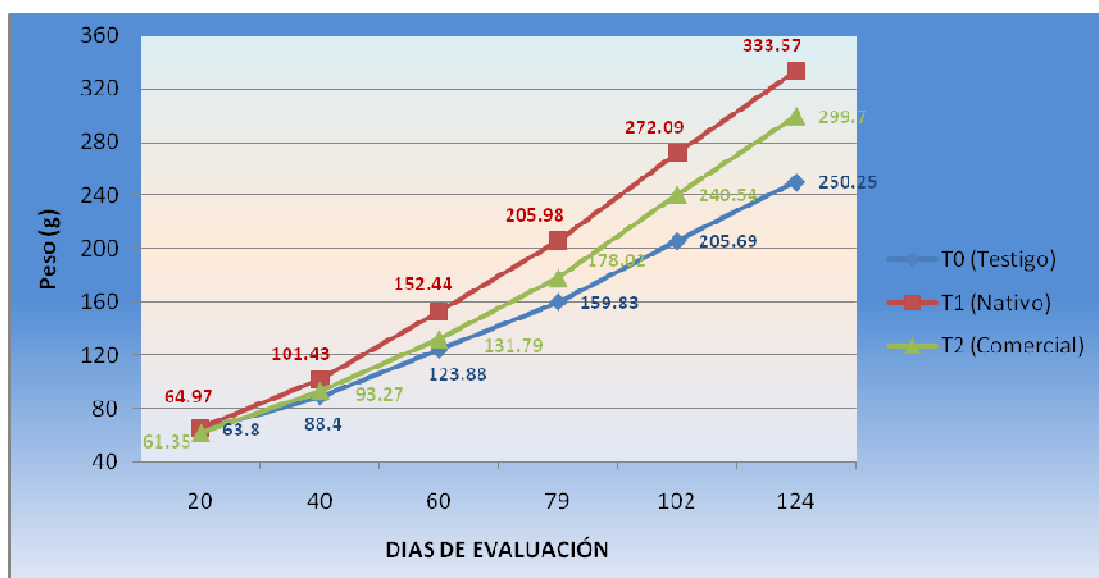


Figura 7. Efecto de dos probióticos, nativo y comercial sobre el incremento de la variable peso (g) para tilapias, en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

4.2.2. Alto

Cuadro 15. ADEVA para medir el efecto de diferentes probióticos nativo y comercial a los 20, 40, 60, 79, 102, y 124 días sobre el alto (mm) en tilapias de engorde en Santo Domingo, 2010.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS					
		20 DIAS	40 DIAS	60 DIAS	79 DIAS	102 DIAS	124 DIAS
TRATAMIENTOS	2	0,12 ^{ns}	0,98*	2,74*	4,47*	5,52*	7,14*
TESTIGO VS PN,PC	1	0,01 ^{ns}	1,28*	2,88*	5,81*	8,64*	11,78*
PN VS PC	1	0,23 ^{ns}	0,68*	2,6*	3,14*	2,4*	2,5*
ERROR	12	0,12	0,12	0,05	0,05	0,03	0,03
TOTAL	14						
CV		7,2	5,45	3,08	2,92	2,22	1,89

En el ADEVA (Cuadro 15) establece que existen diferencias significativas, para los tratamientos a partir de los 40 días. En las comparaciones Testigo Vs Probiótico nativo y Probiótico comercial; P. nativo vs P. comercial, no existió diferencia estadística significativa a los 20 días de evaluación, pero si existe diferencia para los demás días de evaluación.

En el Cuadro 16, se observan las medias de pruebas de Tukey al 5% de probabilidad y se puede apreciar que el tratamiento uno inoculado con bacterias probióticas nativas presentó mejor ganancia en tamaño durante todos los días de evaluación.

La prueba de Tukey (95%) demostró que el mejor tratamiento es el T₁ (probiótico nativo) con 6,0 g/kg de alimento concentrado y esto concuerda con (Gatesoupe, 1999; Ziemer y Gibson, 1998) los cuales sostienen que los probióticos pueden mejorar la actividad digestiva de los organismos por síntesis de vitaminas, cofactores, mejoramiento de la actividad enzimática y absorción de nutrientes, lo que provoca mayor crecimiento en los peces.

Cuadro 16. Medias y rangos de significancia de la variable alto

Tratamiento	EVALUACION EN DIAS											
	20		40		60		79		102		124	
T ₀	48,2	a	58,8	b	63,4	c	64,6	c	66	c	72,4	c
T ₁	49,2	a	67,6	a	77,8	a	83,4	a	87	a	96,2	a
T ₂	46,2	a	62,4	ab	67,6	b	72,2	b	77,2	b	87,2	b
E. experiment	0,118		0,117		0,046		0,046		0,029		0,025	

Al observar los rangos de significancia se deduce que a los 20 días de evaluación no existió diferencia estadística, mientras que a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación si existió diferencia estadística con respecto al testigo, es decir que los tratamientos son diferentes, siendo mejor el T₁.

En la Figura 8, se analiza los resultados del efecto que producen los probióticos nativo y comercial para la variable alto (mm) en tilapias a partir de los 40 días de evaluación donde existió diferencia significativa. El T₁ presentó ser mucho más eficiente al incrementar mayor tamaño con respecto a los demás tratamientos.

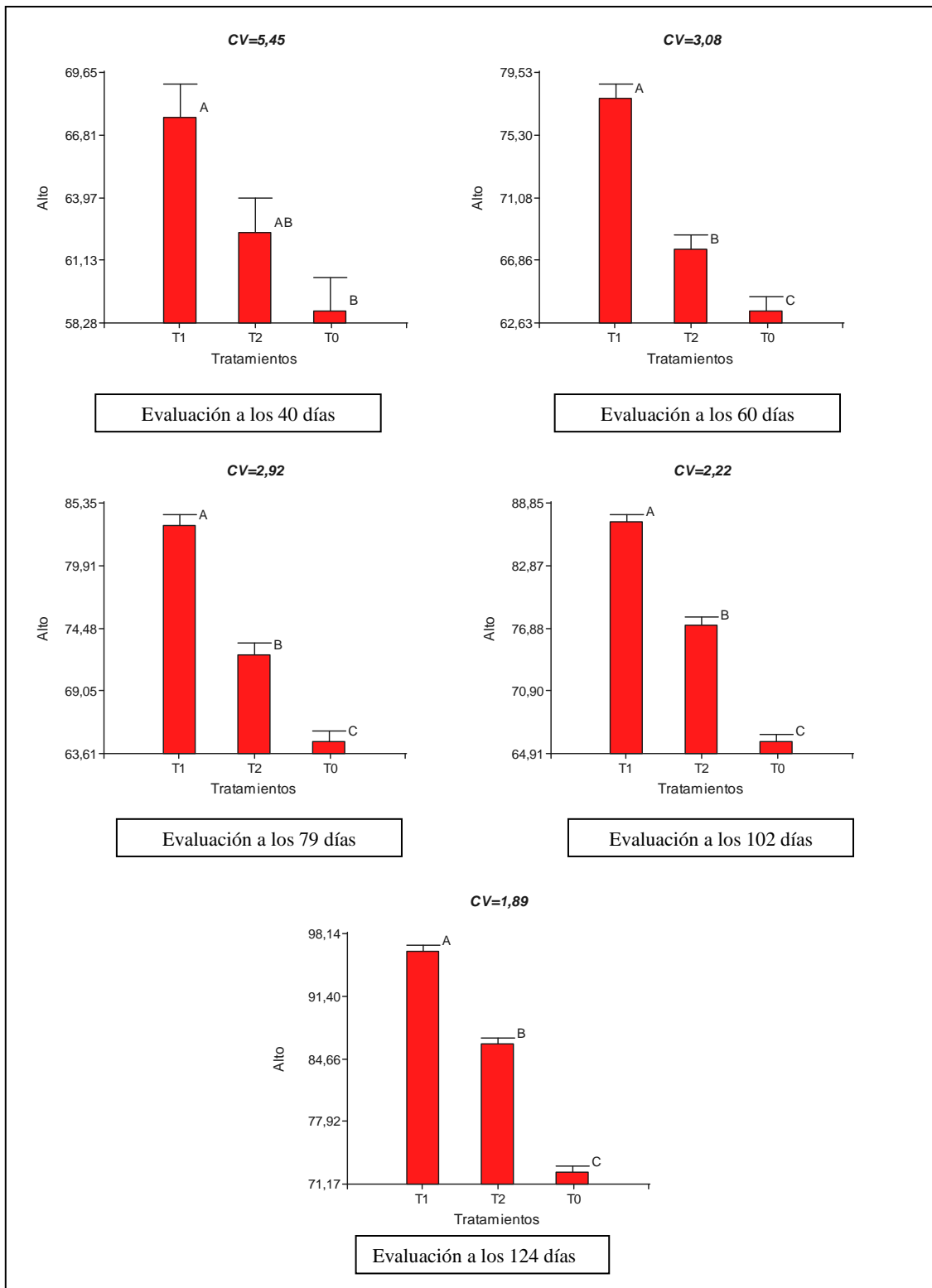


Figura 8. Medias de Tukey de la variable alto (mm) a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación de la tilapia en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

De igual manera presentó un coeficiente de variación bajo durante los días evaluados y esto da confianza a los resultados obtenidos.

En la Figura 9, se aprecia la tendencia de ganancia en tamaño de la variable alto. Se puede observar que el tratamiento control obtuvo la menor ganancia en tamaño, mientras que la mejor ganancia en tamaño fue para el tratamiento uno que corresponde al probiótico nativo cuyo valor fue de 96,2 mm.

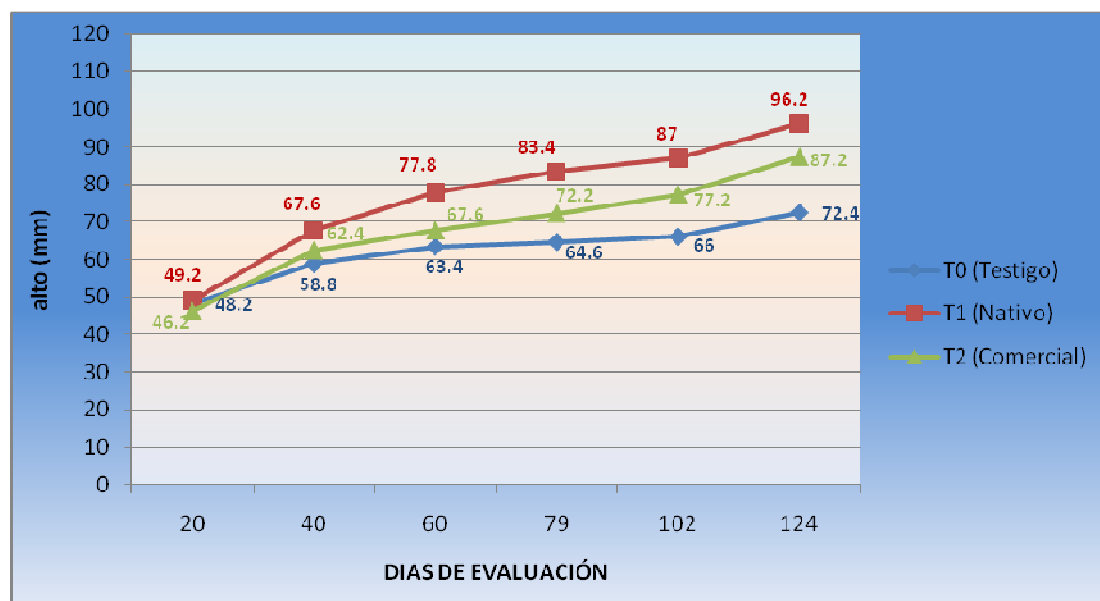


Figura 9. Efecto de dos probióticos, nativo y comercial sobre el incremento de la variable tamaño alto (mm) durante los 20, 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación de las tilapias en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

4.2.3. Largo

En el ADEVA (Cuadro 17), establece que existen diferencias significativas, para los tratamientos y error experimental a partir de los 40 días. Mientras que para los contrastes testigo vs probiótico nativo y comercial no existió diferencia estadística significativa a los 20 días de evaluación, pero si existió diferencia para los demás días de evaluación ya que los probióticos nativos y comercial son distintos al testigo y en el contraste probiótico nativo vs el comercial son diferentes a partir de los 40 días.

Cuadro 17. ADEVA para medir el efecto de diferentes probióticos nativo y comercial a los 20, 40, 60, 79, 102, y 124 días sobre el largo de las tilapias en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS					
		20 DIAS	40 DIAS	60 DIAS	79 DIAS	102 DIAS	124 DIAS
TRATAMIENTOS	2	1,16 ^{ns}	9,17*	23,22*	42,07*	53,5*	72,26*
TESTIGO VS PN,PC	1	0,12 ^{ns}	11,29*	23,94*	53,87*	82,67*	120,8*
PN VS PC	1	2,21 ^{ns}	7,06*	22,5*	30,28*	24,34*	23,72*
ERROR	12	1,58	1,13	0,41	0,45	0,27	0,21
TOTAL	14						
CV		7,55	5,49	3,25	2,94	2,2	1,71

El probiótico fue formulado en base a *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*, en el alimento concentrado con 21% de proteína, mostro ser más eficiente frente al testigo (T₀) y al probiótico comercial (T₂). Lo anterior está de acuerdo con las investigaciones realizadas por Lara *et al.* (2002), Guevara *et al.* (2003), quienes concluyen que la adición de probióticos en las dietas mejoran el crecimiento de especies ícticas tropicales.

Los resultados de la investigación concuerdan con Guevara *et al.* (2003) el aumento de longitud estándar promedio de los tratamientos con probióticos fue mayor al tratamiento control mostrando una diferencia significativa (P< 0,05). Se presentaron diferencias significativas (P<0,05) entre los tratamientos con probióticos con un aumento en su longitud, frente al tratamiento control.

En el Cuadro 18, se presenta las medias de pruebas de Tukey al 5% de probabilidad de variable largo y se puede apreciar que el tratamiento uno inoculado con bacterias probióticas nativas presentó mejor ganancia de peso en todos los días de evaluación. En los rangos de significancia se deduce que a los 20 días de evaluación no existió diferencia estadística mientras que a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación existió diferencia estadística con respecto al testigo.

Cuadro 18. Medias y rangos de significancia de la variable largo

Tratamiento	EVALUACION EN DIAS											
	20		40		60		79		102		124	
T ₀	167,6	a	181,2	b	179,4	c	200,4	c	202,4	c	226,8	c
T ₁	170,4	a	208	a	221,2	a	258	a	267,8	a	302,4	a
T ₂	161,0	a	191,2	ab	191,2	b	223,2	b	236,6	b	271,6	b
E. experimental	1,578		1,126		0,410		0,445		0,269		0,209	

En la Figura 10, se analiza los resultados del efecto que producen los probióticos nativo y comercial en el variable tamaño largo. El T₁ presentó ser mucho más eficiente al incrementar mayor tamaño con respecto a los demás tratamiento.

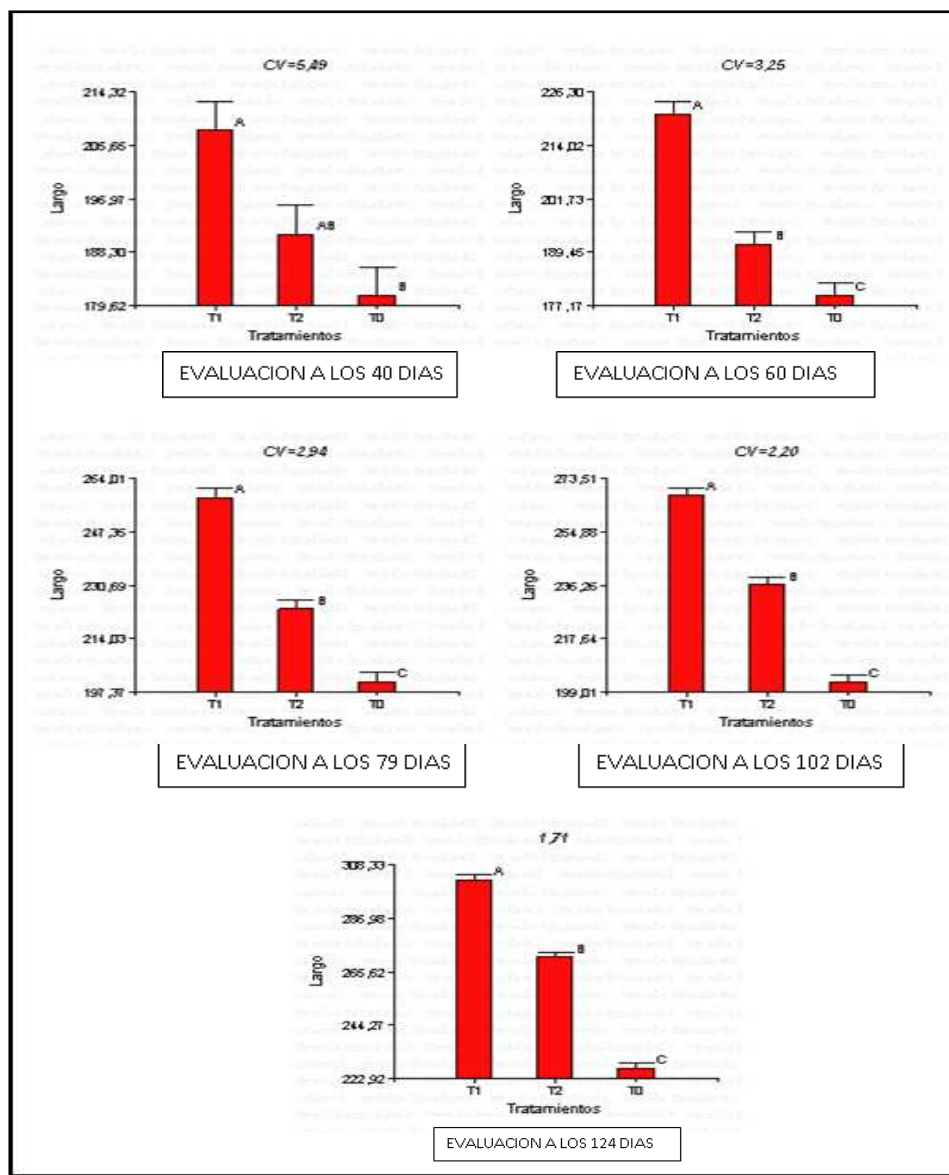


Figura 10. Medias de Tukey de la variable tamaño largo a los 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación de las tilapias en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

De igual manera presentó un coeficiente de variación bajo durante los días evaluados y esto da confianza a los resultados obtenidos.

En la Figura 11, se observan los tratamientos con probióticos y el control, el tratamiento que obtuvo mayor incremento de tamaño en variable largo fue para el probiótico nativo (T₁) con un valor de 302,4 mm, seguido por el probiótico comercial (T₂) con un valor de 271,7 mm y en último lugar se encuentra el tratamiento control con un valor de 226,8 mm. Se deduce que el incremento de tamaño corresponde a la gran cantidad de vitaminas y aminoácidos que producen las bacterias benéficas.

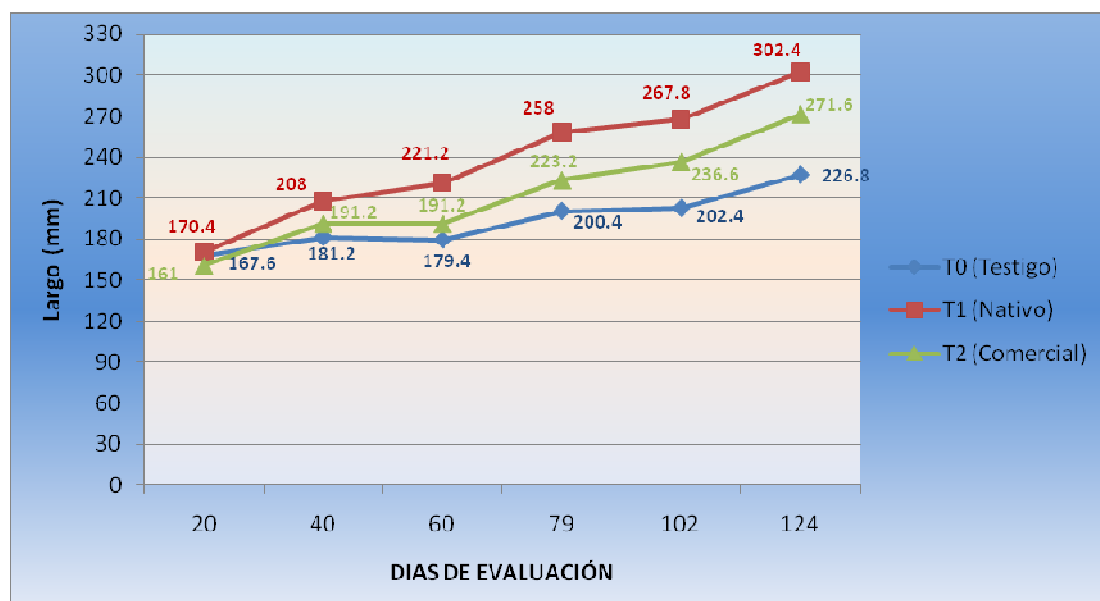


Figura 11. Efecto de dos probióticos, nativo y comercial sobre el incremento de la variable tamaño largo (mm) durante los 20, 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación de las tilapias en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

4.2.4. Conversión Alimenticia

La variable conversión alimenticia, en el ADEVA (Cuadro 19) establece que existen diferencias significativas, para los tratamientos en todos los días de evaluación. Mientras que para los contrastes testigo vs probiótico nativo y comercial existió diferencia estadística significativa durante todos los días de evaluación, mientras que en el contraste probiótico nativo vs comercial no existió diferencia estadística significativa a los 20, 40, 102 y 124 días de evaluación, pero en los días 60 y 79 si hubo diferencia estadística.

Cuadro 19. ADEVA para medir el efecto de diferentes probióticos nativo y comercial a los 20, 40, 60, 79, 102, y 124 días sobre conversión alimenticia en tilapias en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS					
		20 DIAS	40 DIAS	60 DIAS	79 DIAS	102 DIAS	124 DIAS
TRATAMIENTOS	2	0,02*	0,09*	0,11*	0,13*	0,13*	0,11*
TESTIGO VS PN,PC	1	0,03*	0,16*	0,16*	0,23*	0,26*	0,22*
PN VS PC	1	0,01 ns	0,01 ns	0,06*	0,03*	0,01 ns	0,00049 ns
ERROR	12	0,0026	0,0035	0,01	0,01	0,0043	0,0034
TOTAL	14						
CV		5,16	4,02	4,44	4,04	3,41	3,2

En el Cuadro 20, se muestran las medias de pruebas de Tukey al 5% de probabilidad para conversión alimenticia y se puede apreciar que el tratamiento uno inoculado con bacterias probióticas nativas presentó mejor conversión alimenticia al final de la investigación $T_1=1,72$; $T_2=1,73$, cabe recalcar que mientras más se acerque a la unidad el resultado es mucho mejor.

Al observar los rangos de significancia se deduce que a los veinte, cuarenta, sesenta, setenta y nueve, ciento dos y ciento veinte y cuatro días de evaluación si existió deferencia estadística con respecto al testigo, es decir que los tratamientos son diferentes.

Cuadro 20. Medias y rangos de significancia para conversión alimenticia

Tratamiento	EVALUACIONES											
	20		40		60		79		102		124	
T_0	1,05	a	1,61	a	2	a	2,14	a	2,11	a	1,98	a
T_1	0,92	b	1,35	b	1,7	c	1,82	b	1,81	b	1,72	b
T_2	0,99	ab	1,43	b	1,85	b	1,94	b	1,86	b	1,73	b
E. experimental	0,002		0,003		0,006		0,006		0,004		0,003	

Durante la investigación se demostró que la aplicación de bacterias benéficas en la dieta mejora la asimilación de nutrientes por parte del animal y se deduce que los probióticos nativo y comercial obtienen un valor similar en conversión ya que las bacterias benéficas son más eficientes en transformación y asimilación de nutrimentos y esto se afirma con lo indicado por Lara *et al.* (2003) donde evaluó

probióticos comerciales (TP), comparando con antibióticos (TA) donde obtuvo 1,69 para el TP y 2,25 para TA y 2,12 (Tratamiento control).

Palacios, *et al* (2007), menciona que la mejor conversión fue en el T₄ (6g de probiótico /kg) respecto a los demás tratamientos y el de mayor conversión es el T₁ (control sin probiótico), al realizar la prueba de Duncan se reveló una diferencia significativa ($P < 0,05$) para los tratamientos con probiótico T₃ y T₄. Analizando los resultados finales del experimento se puede afirmar que la inclusión de probióticos en la dieta alimenticia en la fase de levante de la tilapia tiene un efecto significativo sobre los parámetros productivos y que la relación de 6g/kg de probiótico en el alimento fue altamente significativa mejor que el control y las demás inclusiones. Y se deduce que las bacterias benéficas mantienen un pH bajo donde las bacterias patógenas no logran mantenerse dando lugar a una mejor asimilación de nutrientes.

En la Figura 12, se analizan los resultados del efecto que producen los probióticos nativo y comercial en la variable conversión alimenticia para tilapia a partir de los 20 días de evaluación donde existió diferencia significativa. El T₁ fue más eficiente, por su mayor incremento en el tamaño con respecto a los demás tratamientos. De igual manera presentó un coeficiente de variación bajo durante los días evaluados y esto da confianza a los resultados obtenidos.

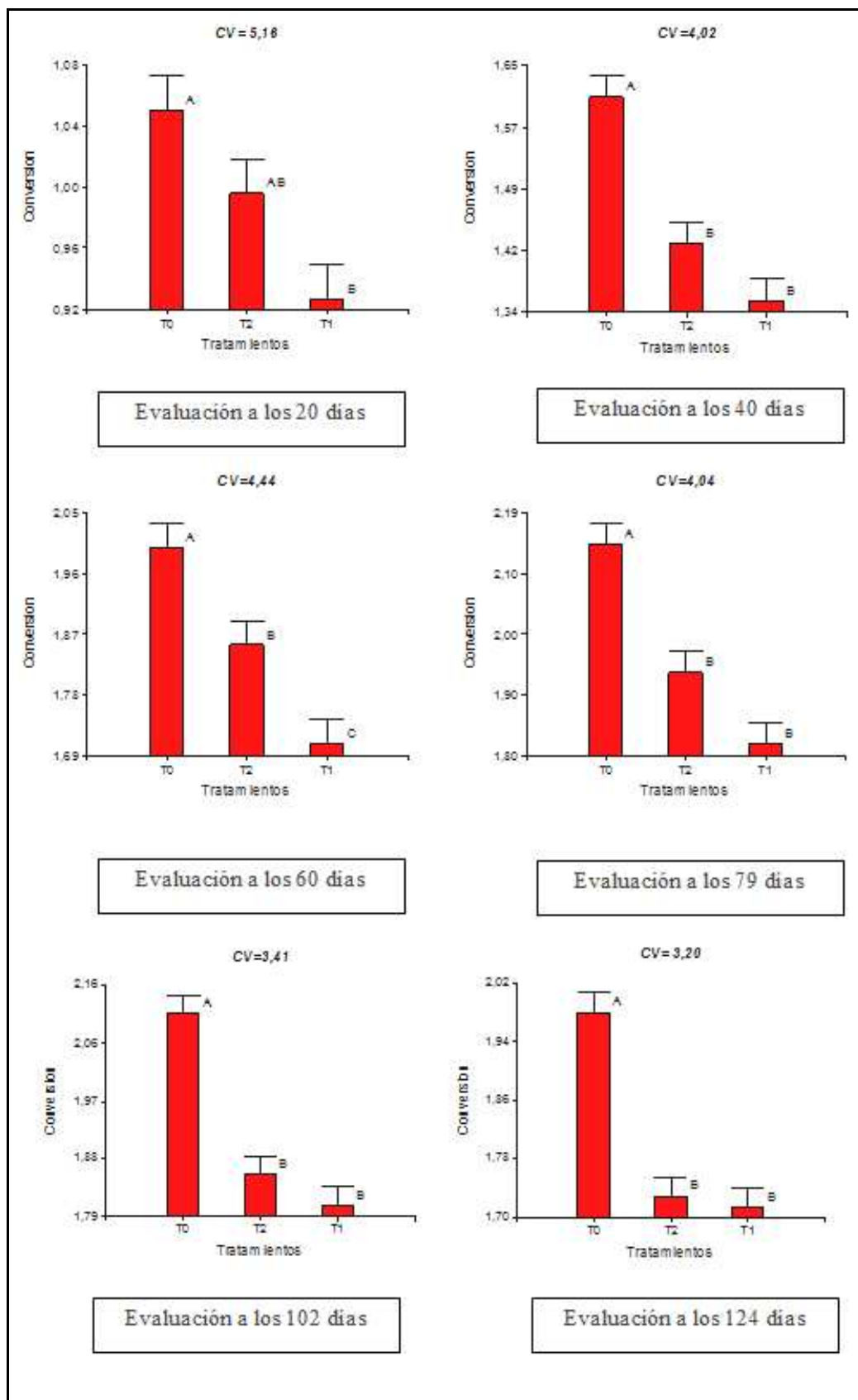


Figura 12. Medias de Tukey para la variable conversión alimenticia a los 20, 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación de las tilapias en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

En la Figura 13, se puede observar claramente como los probiótico nativo y comercial ayudan a la digestión y asimilación de los nutrientes con una gran diferencia frente al control.

El coeficiente de variación es 3,20 %. Los rangos de significancia muestran que los tratamientos uno y dos son iguales pero son muy diferentes al tratamiento control.

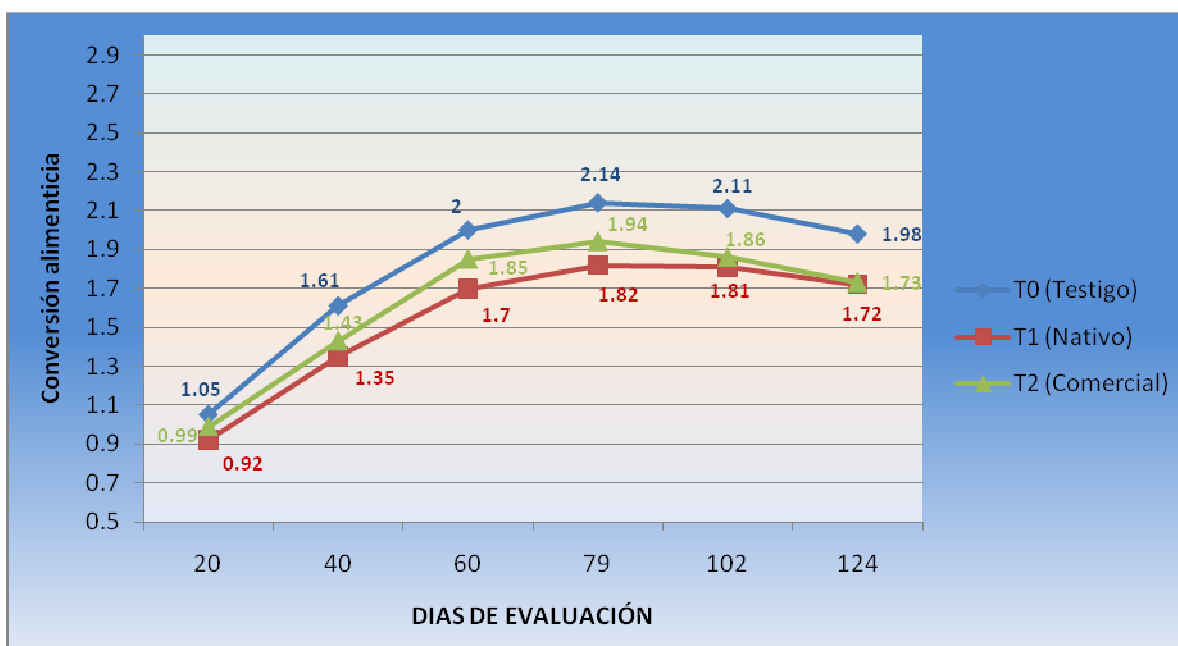


Figura 13. Efecto de dos probióticos, nativo y comercial sobre la variable conversión alimenticia durante los 20, 40, 60, 79, 102 y 124 días de evaluación de las tilapias en etapa de engorde, Santo Domingo, 2010.

4.2.5. Análisis de enfermedades

Mediante las observaciones realizadas en el presente estudio a los 20, 40, 60, 79, 102 y 124 días en etapa de engorde de las tilapias, no se registró enfermedades presentes en los animales en estudio, obteniendo un 0% de peces enfermos.

Se ha obtenido un porcentaje de incidencia de enfermedades del 0 % debiendo atribuirse a un manejo adecuado y principalmente en los tratamientos con probiótico se le atribuye la adición de bacterias las cuales tienen un efecto protectante sobre microorganismos dañinos corroborando a lo indicado por (Naidu *et al.*, 1999) donde

indica que algunas cepas de bacterias producen sustancias bactericidas que afectan el desarrollo y crecimiento de otros microorganismos.

4.2.6. Análisis de mortalidad

Mediante los datos obtenidos en la fase de campo se registró una mortalidad de un total de dos animales. En el día 15 de establecido en el tratamiento T₀ se registró un animal muerto, correspondiente al 2,2 % de mortalidad de dicho tratamiento, y el día 17 se registró otra mortalidad de 1 pez en T₂ de igual forma correspondiente al 2,2 % de mortalidad del tratamiento.

Existe una sobrevivencia muy buena del 100 % en la aplicada probiótico nativo y del 97,8 % en el tratamiento con probiótico comercial lo que concuerda con los obtenidos por Ashraf (2000) quien evaluó la sobrevivencia y el crecimiento de *Salvelinus alpinus* con una mezcla bacteriana, sin presentar mortalidad y con una tasa promedio de crecimiento superior al control (sin probiótico).

En el análisis digestivo realizado después del estudio en campo a los animales en experimentación se obtuvo que los tratamientos con probióticos tuvieron concentraciones por encima de 10⁷ en cuanto a *Bacillus subtilis* y de 10⁶ en cuanto a *Saccharomyces cerevisiae*. Esto concuerda con lo que dice Andlid (1995) citado por Palacios *et al.* (2007) donde, del salmón del atlántico aisló diferentes especies de levaduras, con cuentas de hasta 3 x 10³ células/g de intestino. Las especies dominantes fueron *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula rubra* y *Rhodotorula glutinis*.

4.2.7. Análisis económico

Utilizando la metodología de Perrín *et al.* (1976), del presupuesto parcial, se calculó el beneficio bruto, que corresponde al rendimiento en kg de peces obtenidos por tratamiento. Para ello el peso total se multiplicó por el valor del kg de carne en el mercado interno, adicional a ello se obtuvo los costos variables donde tomamos en cuenta el precio del kg de probiótico comercial y el precio generado por el probiótico

nativo y por último el beneficio neto, el cual es la diferencia entre el beneficio bruto y los costos que varían.

En el Cuadro 21, se observa que se encuentran ordenados los costos de manera creciente, con los beneficios netos se realizó el análisis de dominancia, donde el tratamiento dominado es el que a igual o menor beneficio neto presentó un mayor costo variable. Dicho lo anterior se observó que los tratamientos no dominados son el T₀ y T₁, y al realizar el análisis de la tasa de retorno marginal el tratamiento T₁ se estableció en la alternativa económica viable.

Cuadro 21. Costos variables y beneficios para los tratamientos con la adición de probióticos comerciales y un probiótico nativo en base a *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*.

Trat.	Dosis prob.(gr)	Total costos que varían (\$/Tra)	Beneficio bruto (\$/Trat)	Beneficio neto (\$/Trat)	Dom.
T0	0	0	35,035	35,035	Nd
T1	6	0,83	46,690	45,860	Nd
T2	6	3,86	41,958	38,098	D

Desde el punto de vista económico la aplicación de probióticos en la dieta existe una diferencia muy puntual frente al grupo control. Se trata de un producto competitivo en el mercado a menor costo de producción obteniendo una mayor utilidad neta. El probiótico nativo fue el más eficiente y logró obtener un costo de producción bajo.

Cuadro 22. Análisis marginal de tratamientos no dominados

Trat.	Dosis Probiótico	Total de Costos que varían	Beneficios Netos	CV marginal	BN Marginal	TRM%
0	0	0	35,035			
1	6	0,83	45,860	0,83	10,83	1304

Todos los beneficios netos aumentan conforme la cantidad invertida crece, la tasa de retorno marginal para gastos por encima de los \$ 0,83 es de 1305 %. En la figura 27. Apreciamos la relación entre los costos variables de las alternativas y los

beneficios netos logrados, se indica que el mayor beneficio neto obtenido es el del tratamiento T₁.

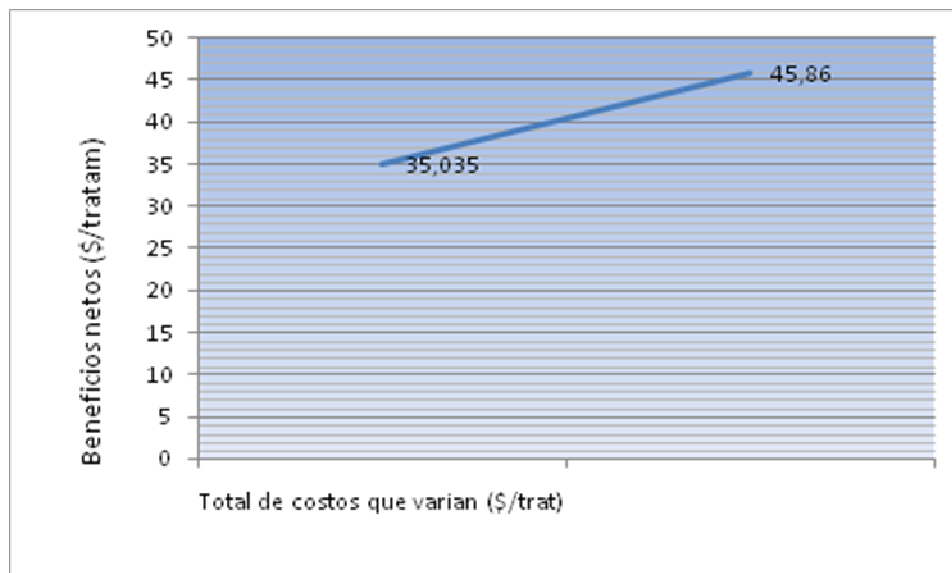


Figura 14. Curva de beneficios netos

V. CONCLUSIONES

- La aplicación de probióticos contribuyó a mejorar la sobrevivencia de las tilapias, debido a que los microorganismos benéficos compiten con los patógenos por sitios de adhesión a la mucosa intestinal y se da el principio de exclusión competitiva
- Los probióticos fueron más eficientes en el consumo de alimento obteniendo mayores ganancias de peso. Puesto que la alimentación representa el 70% de la inversión.
- La inclusión de probióticos en la dieta de tilapias durante la fase de engorde mejora los incrementos de peso, consumo alimento, conversión alimenticia y sobrevivencia.
- Los mejores reportes fueron para el probiótico nativo y se deduce que se establecieron con facilidad en el tracto gastro intestinal del pez ya que fueron de ahí donde se los aislaron y cultivaron.
- La utilización de probióticos determinó ser una alternativa viable y económica para mejorar la rentabilidad de los cultivos intensivos.
- De acuerdo a los resultados obtenidos la alternativa más viable y económica corresponde aplicar un probiótico nativo ya que presentó una mejor relación beneficio costo.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda investigar la aplicación de probióticos en la dieta de tilapias cultivadas en estanques de tierra, puesto que nuestra investigación fue realizada en tanques plásticos.
- En la utilización de probióticos siempre se debe tomar en cuenta que los microorganismos se encuentren con la suficiente capacidad de acción realizando pruebas de viabilidad en el laboratorio, observando que la concentración sea de por lo menos 1×10^6 ufc/g.
- Al momento de mezclar los microorganismos activados con el balanceado, este producto debe ser utilizado antes de las 12 horas, ya que si sobrepasa el tiempo indicado se produce un efecto de fermentación.
- Restringir totalmente el uso de cualquier tipo de antibiótico o desinfectantes ya que inhiben el crecimiento y acción de los microorganismos benéficos.
- Para la obtención de los microorganismos del tracto gastrointestinal del pez, debemos tomar en cuenta que la tilapia se encuentre en estado adulto, saludable y nativa del lugar donde se realiza la investigación.

VII. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el comportamiento productivo de la tilapia (*Oreochromis sp*), al suministrarle un alimento con inclusiones probióticas. El trabajo se realizó en la Provincia Santo Domingo de los Tsáchilas y se emplearon 15 tanques de plástico con capacidad para 550 litros de agua cada uno. Se usó un Diseño Completamente al Azar (DCA), que corresponde a 3 tratamientos con 5 repeticiones cada uno y cada repetición consistió en 9 peces, con un alto de 40 mm y un largo de 155 mm aproximados y con un peso promedio de 44 g. los tratamientos se distribuyeron así: $T_0 = 0g$, $T_1 = 6 g$ y $T_2 = 6 g$ de inclusión probiótica a base de *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*. en T_1 y en T_2 una inclusión probiótico comercial. Estos microorganismos se aislaron del estomago, intestino grueso e intestino delgado de una tilapia adulta de 400 g, la cual se obtuvo de la misma zona de investigación. La multiplicación del inóculo nativo resultó ser efectiva al mantener la concentración de 10^6 ufc/ml para *Bacillus subtilis* y 10^6 ufc/ml para *Saccharomyces cerevisiae*. En cuanto a las variables a evaluar fueron: ganancia de peso (g), alto (mm), largo (mm), conversión alimenticia y presencia de enfermedades. La aplicación del probiótico nativo influyó positivamente sobre la ganancia de peso, alto, largo y conversión alimenticia, quien mostró diferencias estadísticas significativas para los días de evaluación que duró el ensayo. El probiótico nativo logro ser más eficiente económicamente al obtener mejor beneficio costo, según la metodología del presupuesto parcial Perrin *et al.* (1976).

VIII. SUMARIO

The aim of this study was to determine the productive performance of tilapia (*Oreochromis sp*), to provide a probiotic food inclusions. The work was conducted in the Province of Santo Domingo Tsáchilas and used 15 plastic tanks with a capacity of 550 liters of water each. We used a Completely Randomized Design (CRD), which corresponds to 3 treatments with 5 repetitions each and every repetition consisted of 9 fish, with a height of 40 mm and a length of 155 mm and weighing approximate average of 44 g. treatments were distributed as follows: $T_0 = 0g$, $T_1 = T_2 = 6 g$ and 6 g of inclusion based probiotic *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae*. T_1 and T_2 in a commercial probiotic inclusion. These organisms were isolated from the stomach, large intestine and small intestine of adult 400 g tilapia, which was obtained from the same area of research. The multiplication of native inoculum was effective in maintaining the concentration of 10^6 cfu / ml for *Bacillus subtilis* and 10^6 cfu / ml *Saccharomyces cerevisiae*. As for the variables assessed were: weight gain (g), height (mm), length (mm), feed conversion and presence of disease. The application of probiotic native positive influence on the gain of weight, height, length and feed conversion, who showed statistically significant differences for day evaluation of the trial. The probiotic native achievement to be more economically efficient to obtain better cost benefit, according to the partial budget methodology Perrin *et al.* (1976).

IX. BIBLIOGRAFIA

- AGUAYO, D. 2001. Uso de probióticos y β -1,3/1,6- glucanos en la alimentación del camarón *Litopenaeus vannamei* como estrategia para incrementar la producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador, Tesis de ingeniero acuicultor 1-91 p.
- AGUIRRE, G. 1994. Evaluación de diferentes levaduras como fuentes de proteína y/o Probiótico en la alimentación de camarón blanco *P. vannamei*. Tesis de maestría. p 1-110.
- ANDLID, T., 1995. Ecological Physiology of Yeast Colonizing the Intestine of Fish. Department of General and Marine Microbiology, Swwden. 75 p.
- ANON, 1998. CHR. Hansem. Byo System. The World_s microbial experts. Consultado el 08 de marzo del 2008
<http://www.chrhansen.com/infocarne/probioticosennutriciónanimal/>
- APROMAR, 2004. La acuicultura en el mundo. Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos. Consultado el 25 de noviembre del 2009, www.apromar.es
- ASHRAF, A. (2000). Probiotics in fish farming – Evaluation of a candidate bacterial mixture Vattenbruksinstitutionen. Rapport 19, Umeå. 18 pp
- AUSTIN, B., L.F. STUCKEY, P. ROBERTSON, I. EFFENDI, Y D. GRIFFITH. 1995. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalli*. Journal of Fish Diseases 18. 93-96 p.
- BALCÁZAR, J.L.2002. Uso de probióticos en acuicultura: aspectos generales. CIVA, 877-881. Consutado el 08 de marzo del 2011:
<http://www.civa2002.org>

- BERGEY, L. 1994. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology. Noel. R. Krieg (ed.) Editorial Williams & Wilkins Baltimore. London. 8, 4-6 p.
- BJORN, B.B., HORNBAEK, T., JACOBSEN, T., BARKHOLT, V., GRANLY, A., 2003. *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective cultura for vacuum-packed meats: cultura isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. International Journal of Food Microbiology 83, 171-184 p.
- BORTOLOZO, F., F y Kira, K. K.2002. Probióticos . Uso de los probióticos na alimentacio de frangos de corte. File://A:/ probióticos 10. Htm.pp:1-
- BRUNO, M.E.C., MONTVILLE, T.J., 1993. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. Applied Environmental Microbiology 59, 3003-3010 p.
- BURR, G., GATLIN., 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. Journal of the World Aquaculture Society 36, 425-436 p.
- CALERO, G. 2006. Seleccionando el probiótico adecuado para el cultivo de camarón. Diez puntos clave a considerar. Mexico-Distrito Federal.
<http://www.industriaacuicola.com/PDFs/5.2%20-SeleccionandoProbiotico.pdf>
- COLPOS, 2005. Cultivo de tilapias en estanques rústicos. Curso taller dictado a jóvenes emprendedores de las zonas rurales. México. Consultado 02 de diciembre del 2009.
http://www.sra.gob.mx/internet/informacion_general/programas/fondo_tierras/manuales/Cultivo__tilapia_estanques__r_sticos.pdf
- CONROY., 2004. Importantes enfermedades detectadas en tilapias en América. Revista Panorama acuícola, 20-25. Consultado el 08 de Marzo del 2011.
http://www.panoramaacuicola.com/ediciones/pam-9-6/pam-9-6_20-25.pdf

- DELFINI, A., 2006. Exposición sobre : El cultivo de tilapia en estanques de tierra en Ecuador, AQUAMAR S.A. Guayaquil, Ecuador.
- DOUILLET, P. 2000. Bacterial additives that consistently enhance rotifer growth under synxenic culture conditions 2. Use of single and multiple bacterial probiotics. *Aquaculture* 183: 241-248.
- DUWAT, P., CESSÉLIN, B., SOURICE, S., GRUSS, A., 2000. *Lactococcus lactis*, a bacterial model for stress responses and survival. *International Journal of Food Microbiology* 55, 83-86 p.
- EL-HAROON, E.R., A.M.A. GODA Y M.A. KABIR CHOWDHURY., 2006. Effect of dietary probiótico Biogen® supplementation as growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) *Aquaculture Research* 37: 1473-1480.
- FAO, 2004. El Estado Mundial de la Pesca Y la Acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Roma, Italia, 168 p.
- GATESOUBE, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180:147-165 p.
- GARRIQUES, D., Y G. ARÉVALO. 1995. An evaluation of the production and use of a live bacterial inoculum to manipulate the microbial flora in the commercial productions of *Penaeus vannamei* postlarvae in Ecuador In: Browdy, C.L., Hopkins, J.S. (ed.), *Swimming Through Troubled Water. Proceedings of the special session on shrimp farming, Aquaculture '95*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, 53-59 p.
- GOMEZ, G., T. MAYEN, A. ROQUE, JF. TUMBULL, V. INGLIS, A. Y L. GUERRA. 1998. Species of vibrios isolated from hepatopáncreas,

haemolymph and digestive tract of population of healthy juvenile *Penaues vannamei*. Aquaculture. 163, 1-9 p.

GUEVARA, J., MATEUS, R., QUINTERO L., 2003. Evaluación de la utilización de probióticos en la fase de levante del ciclo de producción de la Mojarra roja (*Oeochromis sp.*), Universidad Nacional de Colombia. 1-5 p.

GULLIAN, M., THOMPSON, F., RODRÍGUEZ, J., 2003. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaues vannamei*. Aquaculture 233 (2004) 1-14 p.

GÜNTHER, J., Y JIMÉNEZ, R., 2004. Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laborator; Rev.Biol.Trop. (Int.J.Trop. Biol.ISSN-0034-7744) vol.52(4):937943, Consultado el 18 de febrero del 2009 en www.tropiweb.com

IRIANTO, A., Y AUSTIN B., 2002. Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases 25, 333-342.

JAWETS. 1996. Microbiología Médica. Editorial El Manual Moderno15. .Edición. pp:834-835

JIRAPHOCAKUL, S. SULLIVAN,W.T.; SHAHANI,M,K.1990. Influence of dried B.subtilis culture and antibiotcs as performance and intestinal microflora in turkey.Puoltry Science9:1966-1973

LARA-FLORES, M., OLVERA –NOVOA, M.A., GUZMÁN- MÉNDEZ, B.E., LÓPEZ- MADRID, W., 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 p.

- LOZANO, D., 2001. Manual de Piscicultura de la región amazónica ecuatoriana- Edición, Imprenta Mossaico, Quito- Ecuador. 1- 120 p.
- MORIARTY, D. 1999. Disease Control in Shrimp Aquaculture with Probiotic Bacteria. En: Proceedings of the 8 Internacional Symposium in Microbial Ecology. Bell, C., Brylinsky, M. and Johnson, G., (Eds.), Atlantic Canada Society for Microbial Ecology. Halifax, Canada.
- NAIDU, A. S., BIDLACK, W. R., CLEMENS, R. A., 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). Critical Reviews in Food Science and Nutrition 38,13-126 p.
- NOTARIANNI, E., 2006. La industria de la tilapia en el Ecuador, INFOPECA, San José de Costa Rica.
- OCHOA, J. VASQUEZ, L. (2004). Las levaduras marinas como herramientas científica y biotecnológica. Universidad autónoma de tabasco. Villahermosa-Mexico. 13 p. Consultado el 12-04-2011.
<http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=15409906>
- OMS., 2001. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food .Organización Mundial de la Salud (OMS, WHO en sus siglas en inglés). Consultado el 28 de agosto del 2009. en: <http://probioticos-y-alimentos-funcionales.blogspot.com/2006/08/qu-es-un-probitico.html>
- PALACIOS PALACIOS J., CORAL SANTANDER, ZAMBRANO LUCERO A., LÓPEZ MACÍAS J., 2007, Evaluación comparativa de prebióticos y probióticos incorporados en el alimento comercial sobre el crecimiento y la sobrevivencia de una especie nativa, el sábalo amazónico (*Brycon melanopterus*) y una especie foránea, trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Pág.193-229

PERRÍN *et.al.*1976. Formulación de recomendación de datos agronómicos. Un Manual Metodológico de Educación Económica. Tercera Edición. México DF. Cymmit. 54 p.

POOT DELGADO CARLOS, NOVELO-SALAZAR RAFAEL A. Y HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ MIZAR F., 2009. Cultivo integral de la Tilapia Consultado el 28 de agosto del 2009. en: <http://www.scribd.com/doc/20458321/ABC-en-El-Cultivo-Integral-de-La-Tilapia#>, 30-40 p.

POOT-POOT,W.A., 2001. Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas del tracto intestinal de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) bajo condiciones de cultivo. Tesis de Licenciatura, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN Unidad Mérida. México, 46 p.

PRONACA, 2008. Manual de manejo de Cultivo de Tilapia Roja. Guayaquil – Ecuador. 8-9 p.

QUIÑONEZ, 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 p

REDMAYNE, P. 2001, Revista Panorama Acuícola, Ag. 2001 (vol. 6, no.5), “Auge en el abastecimiento de filetes frescos de tilapia”.

RINGO, E., GATESOUPE, F.J., 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture 160, 177-2003 p.

SAAVEDRA, L. PERALVO, L. (2006). Validación de biopreparados en base a bacterias epifitas para el control de la moniliasis en cacao fino de roma en el cantón Valencia de la provincia de Los Ríos. Consultado el 25-02-2011. <http://www3.espe.edu.ec:8700/bitstream/21000/2549/1/T-ESPE-IASA%20II-001598.pdf>

- SAMANIEGO, L. SOSA, M. 2002. Lactobacillus spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora. Centro de Estudios Biotecnológicos. Facultad de Agronomía. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”. Matanzas, Cuba. Consultado el 19-04-2011.
<http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASH011d/e18c5081.dir/doc.pdf>
- SEH-LELHA, 2008. Probioticos. Sociedad Española de Hipertensión. Liga española para la lucha contra la hipertensión arterial. Consultado el 18 de febrero del 2009. en: <http://www.seh-lelha.org/club/probiotico.htm>
- SERVIRTUAL, 2007. Mapa turístico de Santo Domingo. Consultado el 21 de agosto en: <http://servirtual.com/village/images/mapa.jpg>
- SOTOMAYOR, M.A., J.L. BALCÁZAR, 2003. Inhibición de vibrios patógenos de camarón por mezclas de cepas Probióticas. Revista acuatic 19: 9-15. Consultado 08 de Marzo del 2011 en:
<http://www.revistaaquatic.com/aquatic>
- SULLIVAN, D.J.O., 2001. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria. Journal of Agriculture Food Chemistry 49, 1751-1760 p.
- THOMPSON, F., C. THOMPSON, B. HOSTE, K. VANDEMUELEBROECKE, M. GULLIAN, J. SWINGS., 2004. *Vibrio fortis* sp. And *Vibrio hepatarius* sp. Nov., isolated from aquatic animals and the marine enviroment. International Journal of Systematic and Evolutationaty Microbiology 53, 1495-1501.
- VERSCHUERER, L., NET. ROMBAUT, P. ZORRUELOS, Y W. VERSTRAETE. 2000. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. Microbiology and Moleclar Riology Reviews. 64, 655-671 p.
- WANG, Y.G., K.L.LEE, M.NAJIAH, M.SHARIFF & M.D. HASSAN. 2000 .A new bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus*

monodon and its comparison with white spot syndrome (WSS) caused by virus. *Dis. Aquatic Organisms* 41:9-18p.

ZIEMER, C.J., Y G.R. GIBSON. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. *Int. Dairy J.* 8, 473-479 p.

X. ANEXOS

Anexo 1. Resultados moleculares



Guayaquil, Cda. Vermaza Norte Mz. 10 V. 34
Tel-Fax: (04) 2284066-2284815 Celular: (09) 423 895
e-mail: concepto@conce.com.net

Guayaquil, 02 de junio de 2010.

PARA: ESPE
Atención: Sr. Bladimir López

DE: CONCEPTO AZUL
Tcnlga. Paula Pinto B.

REPORTE DE ANÁLISIS

MUESTRAS RECIBIDAS:

- 1 cepa bacteriana
- 1 levadura

ANÁLISIS REALIZADOS:

- Identificación molecular de 2 cepas, una bacteriana y una levadura.
 - Subcultivo de la cepa en medio sólido o líquido.
- 2- Extracción del ADN cromosómico.
- 3- Amplificación mediante PCR del gen 16S rRNA en bacterias.
- 4- Purificación de los amplicones
- 5- Secuenciación
- 6- Análisis de las secuencias en bancos de datos (GenBank, EMBL etc...), mediante alineamiento de homología usando el BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).
- 7- Entrega del informe.

Por medio de la presente, le hago entrega del informe correspondiente al análisis molecular para la identificación de las cepas de bacterias entregadas.

Agradeciendo por su interés en nuestros servicios, quedo de Ud., para cualquier información adicional que se requiera.

Atentamente,

Paula Pinto B.
Tcnlga. Paula Pinto B.

NOTA: Sólo los reportes con firma y sello de la empresa son válidos.

Continuación Anexo 1. Resultados moleculares

Identificación molecular de cepas de Bacterias

Objetivos.

Identificación molecular de una cepa bacteriana y una levadura.

Metodología.

Subcultivo de microorganismos.

Fueron recibidas 2 cepas, una bacteriana y una levadura, las mismas que fueron subcultivadas en agar TSA e incubadas a 30°C durante 2 días, con el fin de obtener muestras frescas para el proceso de extracción de ADN

Extracción de ADN.

Para las cepas bacterianas obtenidas se procedió a extraer su ADN genómico mediante los protocolos aplicados para bacterias y levaduras.

Amplificación por PCR.

El trabajo de amplificación por PCR fue primeramente realizado sobre los genes 16S rRNA en bacterias y levaduras, obteniendo los fragmentos del tamaño esperado.

Purificación de los amplicones

Los fragmentos amplificados del gen 16SrRNA fueron purificados mediante el Wizard PCR Clean Up System de Promega y enviadas a secuenciar.

Secuenciación y análisis de secuencias.

Los fragmentos purificados fueron enviados para la secuenciación y posteriormente se realizó el alineamiento de las secuencias, empleando el software online Blast (Basic Local Alignment Search Tool). Se determinó la homología de cada cepa mediante comparación de las secuencias con las existentes en el GenBank (Banco de Genes-base de datos de las secuencias registradas a nivel mundial).

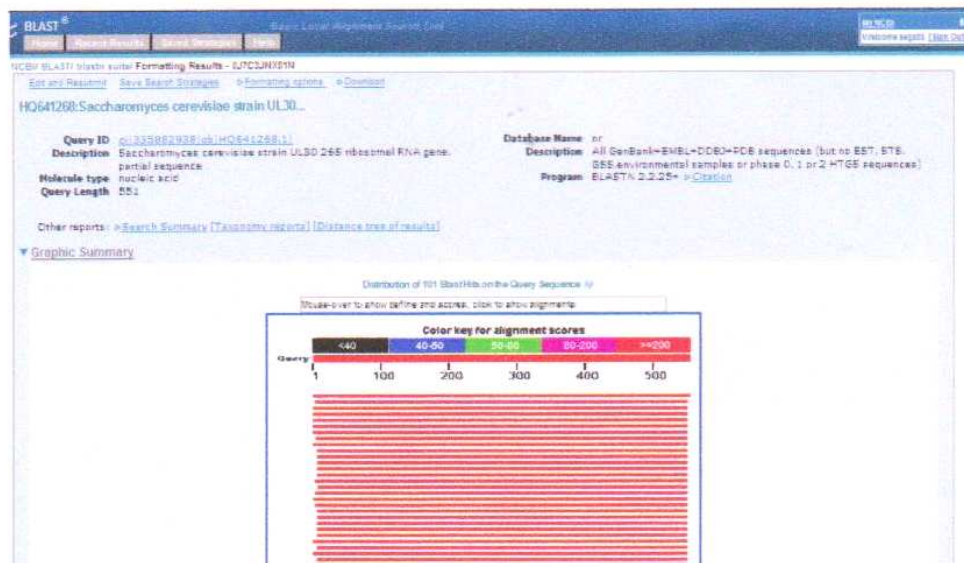
Continuación Anexo 1. Resultados moleculares

Resultados.

Saccharomyces cerevisiae

Cepa 3-1,S2

```
>100919-06_E03_ESPE-Sac-614F.ab1 991
tcacggtatgcttagtacggcgagtgagcggcaaaagctcaaatttgaatctggtacct
tcggtgcccaggttgtaatttgagaggggcaactttggggccgctccttgtctatggtcc
ttggaacaggacgctcatagagggtgagaatcccggtgtggcgaggagtgcggttctttgta
aagtgccttcgaagagtcgagttgtttgggaatgcagctctaagtgggtggtaaatcca
tctaaagctaaatattggcgagagaccgatagcgaacaagtacagtgatgaaagatgaa
aagaactttgaaaagagagtgaaaaagtacgtgaaattgttgaaaggaagggcatttga
tcagacatggtgttttgtgccctctgctccttgtgggtaggggaatctcgcatctcactg
ggccagcatcagttttgggtggcaggataaatccataggaatgtagcttgccctcggttaagt
attatagcctgtgggaatactgccagctgggactgaggactgcgacgtaagtcaaggatg
ctgcatacatc
```



Continuación Anexo 1. Resultados moleculares

▼ Descriptions

Legend for links to other resources: UniProt, NCBI, Gene, Structure, Snap Viewer, PubChem BioAssay

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E-value	Max ident	Link
U001003.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain U001003 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001004.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain 7-26S ribosomal RNA gene, partial	1000	1000	99%	0.0	99%	
U001005.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL4B 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001006.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL21 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001007.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL11 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001008.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL9 26S ribosomal RNA gene, par	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001009.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL7 26S ribosomal RNA gene, par	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001010.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NSB 26S ribosomal RNA gene, par	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001011.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain Yeast 2 26S ribosomal RNA gene	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001012.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain U001012 26S ribosomal RNA gene, i	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001013.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL24 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001014.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL16 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001015.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL3 26S ribosomal RNA gene, par	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001016.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 26S ribosomal RNA gene, partial sequen	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001017.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL32 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001018.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL4 26S ribosomal RNA gene, par	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001019.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain 4 26S ribosomal RNA gene, contig	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001020.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain M2 26S ribosomal RNA gene, part	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001021.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 26S ribosomal RNA gene, partial sequen	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001022.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain AH-6 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001023.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain L3D 26S ribosomal RNA gene, par	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001024.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL27 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001025.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL25 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001026.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL19 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001027.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL18 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001028.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL24 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001029.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL3-9 26S ribosomal RNA gene, i	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001030.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL22 26S ribosomal RNA gene, pi	1000	1000	100%	0.0	100%	
U001031.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL8 26S ribosomal RNA gene, par	1000	1000	100%	0.0	100%	

La cepa de la levadura (3-1,S2) permitió analizar una secuencia de 551 pares de bases, la cual mostró tener 100 % de homología con cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.

Bacillus subtilis

Cepa 1-4,AP

>100920-06_E03_ESPE-Bac-614F.ab1 922

```

gctcaggacgaaacgctggcggcgctgcctaatacatgcaagtcgagcgggacagatgggagc
ttgctccctgatgtagcggcggcagcgggtgagtaaacacgtgggtaacctgcctgtaagac
tgggataaactccgggaaaccggggctaataccggatgcttgtctgaaccgcatggttcaa
acataaaaaggtggcttcggctaccacttacagatggaccccgccgcattagctagtgg
tgaggtaatggctcaccaaggcaacgatgcgtgagccgacctgagagggtgatcggccaca
ctgggactgagacacggcccaactcctacgggagcagcagtagggaatcttccgcaat
ggagaaagtctgacggagcaacgcgcgctgagtgatgaaggttttcggatcgtaaagct
ctgttgttagggaagaacaagtaccgttcgaatagggcggtagccttgacggtagcctaacc
agaaagccacggctaaactacgtgccagcagcccggttaatacgtagggtggcaagcgttgt
ccggaattattggcgtaaaaggctcgcaggcgggtttcttaagctctgatgtgaaagccc
cggtcaaccggggagggtcattggaaactgggaaacttgagtgcagaagaggagagtg
aattccacgtgtagcggtgaaatgcgttagagatgtggaggaacaccagtgccgaaggcga
ctctctggtctgtaactgacgctgaggagcgaagcgtggggagcgaacaggattagata
ccctggtagctcacgcgctaaacgatgagtgctaagtggttaggggtttccgccccttag
tctgagcctaacgattaagcactccgcctggggagtagcgtcgcaagactgaaactca
aaggaattgacggggggccgcacaagcgggtggagcatgtggtttaattcgaagcaacgcg
aagaaccttaccaggtcttgacatcctctgacaatcctagagataggacttccccttcgg
ggcagagtgacaggtggtgcatggttctcgtcagctcgtgctgagatgttgggttaa
gtccgcaacgagcgaacccttgatcttagtgccagcattcagttgggcactctaagg
tgactgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgcccttat
gacctgggctacacacgtgctacaatggacagaacaaaggcagcgaaccgcgaggtta
agccaatcccaacaatctgttctcagttcggatcgcagctctgcaactcgaactgcgtgaag
ctggaatcgctagtaatcgcggatc

```


Continuación Anexo 1. Resultados moleculares

Query ID: JF275838
Query Description: Bacillus subtilis strain CH715 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Molecule type: nucleic acid
Query Length: 1345

Database Name: nr
Description: All GenBank+EMBL+DDBJ+PCB sequences (but no EST, STS, GSS environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
Program: BLASTN 2.2.25+

Graphic Summary: Distribution of 115 BlastN hits on the Query Sequence. Mouse-over to show off the alignment scores, click to show alignment.

Color key for alignment scores: <40 (blue), 40-60 (green), 60-80 (yellow), 80-200 (orange), >200 (red)

Descriptions: Legend for links to other resources: UniGene, Gene, Structure, Map Viewer, PubChem Bioassay

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Link
U121288.1	Bacillus subtilis strain CH715 16S ribosomal RNA gene, partial seq	2152	2484	100%	0.0	100%	
U121289.1	Bacillus subtilis strain N10 16S ribosomal RNA gene, partial sequen	2152	2479	100%	0.0	99%	
U121290.1	Bacillus subtilis strain T9-BH-037 16S ribosomal RNA gene, part	2152	2470	100%	0.0	99%	
U121291.1	Bacillus subtilis strain ES5902 16S ribosomal RNA gene, partial seq	2152	2470	100%	0.0	99%	
U121292.1	Bacillus subtilis strain AU50 16S ribosomal RNA gene, partial sequ	2152	2470	100%	0.0	99%	
U121293.1	Bacillus subtilis subsp. spizizenii strain RRL182 16S ribosomal RNA	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121294.1	Bacillus subtilis strain MB5 N107 16S ribosomal RNA gene, partial	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121295.1	Bacillus sp. MB91 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121296.1	Bacillus subtilis subsp. spizizenii str. N123, complete genome	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121297.1	Uncultured Bacillus sp. clone Fil1102 16S ribosomal RNA gene, part	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121298.1	Uncultured Bacillus sp. clone Fil1102 16S ribosomal RNA gene, part	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121299.1	Bacillus subtilis strain ED-45 16S ribosomal RNA gene, partial sequ	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121300.1	Bacillus licheniformis strain cha-55 16S ribosomal RNA gene, partia	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121301.1	Bacillus subtilis strain EQ95 16S ribosomal RNA gene, partial sequ	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121302.1	Bacillus sp. LD154 partial 16S RNA gene, isolate LD154	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121303.1	Bacillus sp. LD153 partial 16S RNA gene, isolate LD153	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121304.1	Bacillus sp. LD116 partial 16S RNA gene, strain LD116	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121305.1	Bacillus sp. E18(2008) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121306.1	Bacillus sp. E18(2008) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121307.1	Bacillus sp. E14(2008) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121308.1	Bacillus sp. B10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121309.1	Bacillus sp. B8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121310.1	Bacillus sp. T04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121311.1	Bacillus subtilis gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121312.1	Uncultured Bacillus sp. clone TCCC 21201 16S ribosomal RNA gen	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121313.1	Bacillus sp. zhi-51 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121314.1	Bacillus subtilis strain E1-30 16S ribosomal RNA gene, partial sequ	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121315.1	Bacillus subtilis strain F4B104 16S ribosomal RNA gene, partial seq	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121316.1	Bacillus subtilis strain YMC11 16S ribosomal RNA gene, partial seq	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121317.1	[Brevibacterium] halotolerans 16S RNA gene, strain DSM 8802	2150	2469	100%	0.0	99%	
U121318.1	Bacillus sp. A440, complete genome, 16S ribosomal RNA gene, partia	2149	2468	100%	0.0	99%	

La cepa de la levadura (1-4, AP) permitió analizar una secuencia de 1345 pares de bases, la cual mostró tener 100 % de homología con cepas de *Bacillus subtilis*.

Conclusión

Cepas	Identificación molecular
Cepa (3-1,S2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Cepa (1-4 AP)	<i>Bacillus subtilis</i>

Anexo 2. Conteo de bacterias y levaduras del probiótico



Guayaquil: Cds. Vernaza Norte Mz. 10 V. 34
Tel-Fax: (04) 2284066 2284615 Celular: 097488010
e-mail: conceptam1@gmail.com

Guayaquil, 21 de Junio de 2010.

PARA: ESPE
Sr. Bladimir López

DE: CONCEPTO AZUL
Tcnlga. Paula Pinto B.

REPORTE DE ANÁLISIS

MUESTRAS RECIBIDAS:

-Probióticos en cultivos líquidos:

1-4-AP (*Bacillus subtilis*)

3-1 – S2 (*Saccharomyces cerevisiae*)

FECHA DE ANALISIS: 16 de Junio del 2010 a las 13 :00 horas

ANÁLISIS REALIZADOS:

- Cultivo y conteo de células viables en cada uno de las muestras

CLAVES:

UFC Unidad formadora de colonias.

A:	Amarilla	R:	Redonda	L:	Luminiscente
T:	Transparente	M:	Mediana	Cr:	Cremosa
A/Co:	Amarilla con Centro	I :	Irregular	B:	Blanca
V:	Verde	G:	Grande	Rj:	Roja
V/Co:	Verde con Centro	P:	Pequeña	An:	Anaranjada
Vda:	Verdosa	Co:	Con centro		

Continuación Anexo 2. Conteo de bacterias y levaduras del probiótico

RESULTADOS DE ANALISIS:

Lectura a las 72 horas

1-4-AP

Agar MRS	MORFOLOGÍA COLONIAS BACTERIANAS	UFC	%
	CrIP	16.0 X 10 ⁵	33
	TRP	12.0 X 10 ⁵	25
	ARP	8.0 X 10 ⁵	17
	CrRP	12.0 X 10 ⁵	25
	TOTAL UFC/mL	48.0 X 10 ⁵	100
		4.8 X 10 ⁶	

3-1 – S2 (Levaduras)

Agar PDA	MORFOLOGÍA DE COLONIAS DE LEVADURAS	UFC	%
	CrRG	8.0x10 ⁵	12
	CrRP	35.0x10 ⁵	53
	TIP	22.0x10 ⁵	33
	TIG	1.0x10 ⁵	2
	TOTAL UFC/mL	66.0x10 ⁵	100
		6.6 x10 ⁶	



Atentamente

Paula Gloria Pinto B.

Tcnlga. Paula Pinto B.

NOTA: Sólo los reportes con firma y sello de la empresa son válidos.

Anexo 3. Concentración de bacteria y levadura en soportes sólidos



Guayaquil: Cda. Venaza Norte Mz. 10 V. 34
Tel-Fax: (04) 2284066 2284615 Celular: 097488010
e-mail: concept azul@gmail.com

Guayaquil, 13 de Julio de 2010.

PARA: ESPE
Sr. Bladimir López

DE: CONCEPTO AZUL
Tcnlga. Paula Pinto B.

REPORTE DE ANÁLISIS

MUESTRAS RECIBIDAS:

- Mezcla de Harina de pescado y *Bacillus Subtilis*.
- Mezcla de Harina de pescado y Levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
- Mezcla de Harina de soya y *Bacillus Subtilis*.
- Mezcla de Harina de soya y Levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
- Mezcla de tierra de montaña y *Bacillus Subtilis*.
- Mezcla de tierra de montaña y Levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

FECHA DE ANALISIS: 8 de Julio del 2010.

ANÁLISIS REALIZADOS:

- Cultivo y conteo de microorganismos aerobios en MRS (muestras que contiene *Bacillus Subtilis*).
- Cultivo y conteo de microorganismos aerobios en PDA (muestras que contienen Levadura *Saccharomyces cerevisiae*).

CLAVES:

UFC Unidad formadora de colonias.

A:	Amarilla	R:	Redonda	L:	Luminiscente
T:	Transparente	M:	Mediana	Cr:	Cremosa
A/Co:	Amarilla con Centro	I:	Irregular	B:	Blanca
V:	Verde	G:	Grande	Rj:	Roja
V/Co:	Verde con Centro	P:	Pequeña	An:	Anaranjada
Vda:	Verdosa	Co:	Con centro		

Resultado de Analisis - Pagina 1

Continuación Anexo 3. Concentración de bacteria y levadura en soportes sólidos

RESULTADOS DE ANALISIS:			
Lectura a las 96 horas (4 días)			
-Mezcla de Harina de pescado y <i>Bacillus Subtilis</i>.			
Agar MRS	MORFOLOGÍA DE COLONIAS	UFC	%
	ARP	593 x10 ⁶	71.4
	BRG	2 x10 ⁶	0.2
	BRM	42 x10 ⁶	5.1
	BRP	194 x10 ⁶	23.3
	TOTAL ufc/g	831x10⁶	100
		8.3X10⁸	
-Mezcla de Harina de pescado y Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.			
Agar PDA	MORFOLOGÍA DE COLONIAS	UFC	%
	CrRP	327 x10 ⁶	96.7
	CrRM	3 x10 ⁶	0.9
	CrIM	8 x10 ⁶	2.4
	TOTAL ufc/g	338x10⁶	100
		3.4X10⁸	
-Mezcla de Harina de soya y <i>Bacillus Subtilis</i>.			
Agar MRS	MORFOLOGÍA DE COLONIAS	UFC	%
	ARP	531 x10 ⁵	90.2
	CrRP	56 x10 ⁵	9.5
	BRG	1.5x10 ⁵	0.3
	TOTAL ufc/g	588.5 x10⁵	100
		5.9 X10⁷	
-Mezcla de Harina de soya y Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.			
Agar PDA	MORFOLOGÍA DE COLONIAS	UFC	%
	BRP	68 x10 ⁶	91.9
	BRM	1.8 x10 ⁶	2.4
	BRG	2.8x10 ⁶	3.8
	TIP	0.4 x10 ⁶	0.5
	BIG	1.0 x10 ⁶	1.4
	TOTAL ufc/g	74.0x10⁶	100
		7.4 X10⁷	

Continuación Anexo 3. Concentración de bacteria y levadura en soportes sólidos

- Mezcla de tierra de montaña y *Bacillus Subtilis*.

Agar MRS	MORFOLOGIA COLONIAS	UFC	%
	ARP	62 x10 ⁶	59.3
	CrRM	23 x10 ⁶	22
	BRM	5 x10 ⁶	4.8
	BRP	14.5 x10 ⁶	13.9
	CrRG	1x10 ⁴	0
	CrIG	1.5 x10 ³	0
	TOTAL ufc/g	104.5x10 ⁶	100
	1.1X10 ⁸		

-Mezcla de tierra de montaña y Levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Agar PDA	MORFOLOGIA COLONIAS	UFC	%
	ARP	461.5 x10 ⁶	97.9
	CrRP	0.5 x10 ⁶	0.1
	CrRM	6.5 x10 ⁶	1.4
	CrRG	3.0x10 ⁶	0.6
	TOTAL ufc/g	471.5 x10 ⁶	100
	4.7x10 ⁸		

Atentamente,

Paula Pina Pinto B.

Tcnlga. Paula Pinto B.

NOTA: Sólo los reportes con firma y sello de la empresa son válidos.



Anexo 4. Fase de Laboratorio



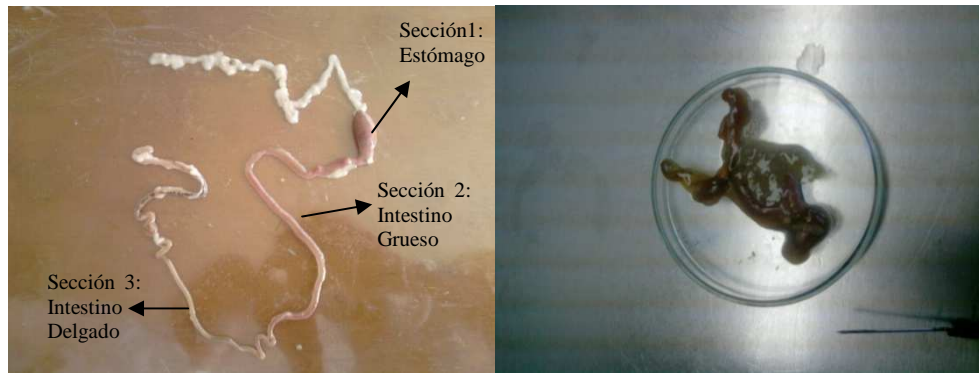
a.Elaboración del medio de cultivo



b.Muestra seleccionada para extracción



c.Extracción del sistema digestivo



d. Sistema digestivo (Secciones de extracción de microorganismos)



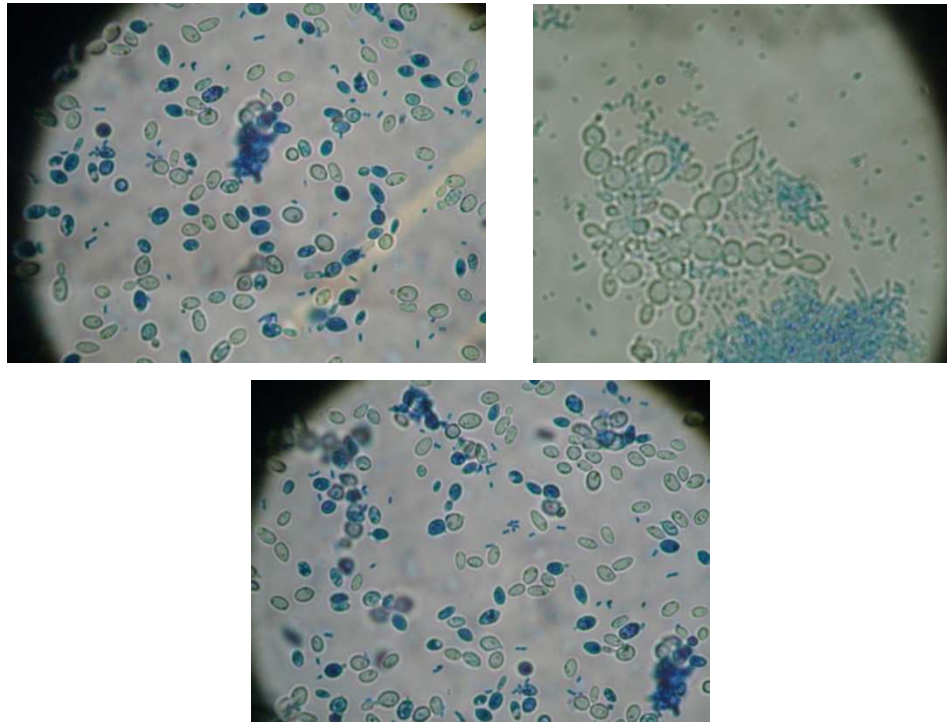
e. Inoculación en solución de suero fisiológico



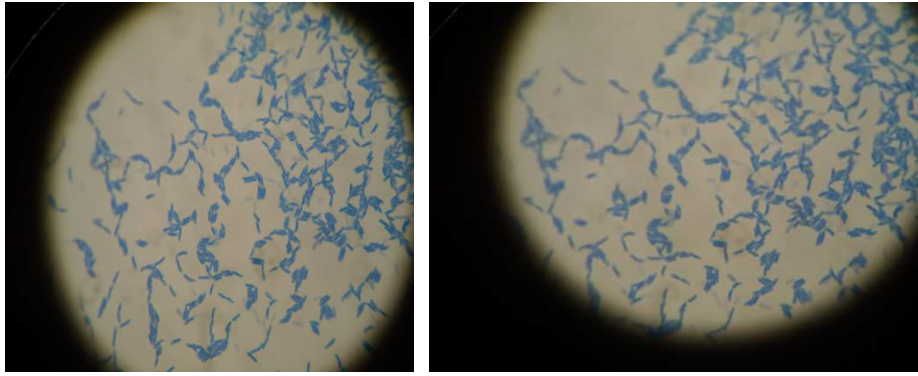
f. Siembra del inculo en cajas petri



g. Colonias obtenidas en Manitol, Muller Hilnton y Sabouround



h. Resultados morfológicos(*Saccharomyces cerevisiae*)



i. Resultados morfológicos (*Bacillus subtilis*)



j. Colonias purificadas en Sabourond y Agar Plate de *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*





k. Preparación de soportes de sostén



l. Elaboración de la cepa madre del probiótico



m. Inclusión al soporte solido



n. Incubación de soporte inoculado

Anexo 5. Conteo de bacterias anaerobias por medio de placas Petrifilm 3M



a. Cultivo líquido de *Bacillus subtilis*



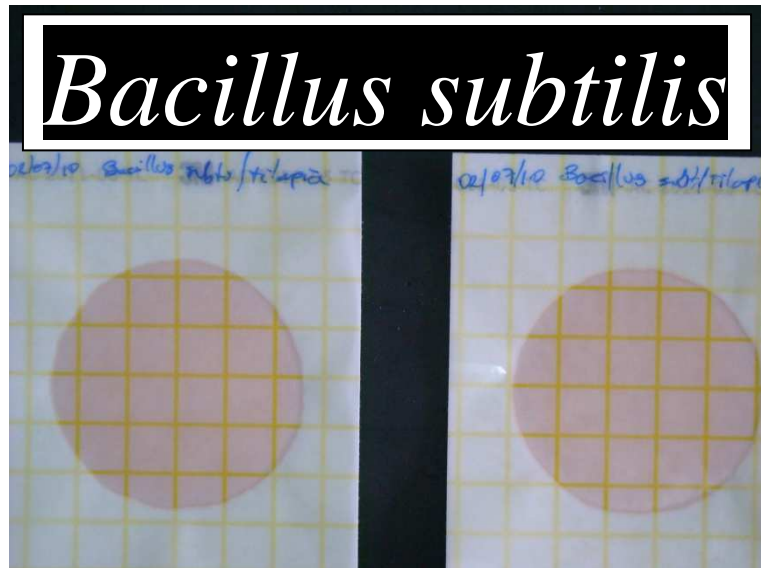
b. Colocación del medio en las placas Petrifilm



c. Colocación del difusor 3M



d. Incubación a 28 °C por 72 horas



e. Interpretación de la concentración (1×10^8)

Anexo 6. FASE DE CAMPO



a. Adecuación y distribución de tanques de agua



b. Acometida de entrada y salida agua



c. Suministro y aireación del agua



d. Mezcla del agua + melaza



e. Determinación del tamaño y peso



f. Mediciones de la tilapia



g. Colocación de las tilapias en los respectivos tanques



h. Alimentación de tilapias



i. Limpieza de tanques

Anexo 7. Concentración de bacterias y levaduras en el sistema digestivo



Guayaquil: Cda. Vernaza Norte Mz. 10 V. 34
Tel-Fax: (04) 2284066 2284615 Celular: 097488010 e-mail:
conceptoazul@gmail.com

Guayaquil, 28 de febrero de 2011.

PARA: ESPE
Sr. Bladimir López

DE: CONCEPTO AZUL Ing. Paula
Pinto B.

REPORTE DE ANÁLISIS

MUESTRAS RECIBIDAS:

- Botella con cultivo líquido de *Bacillus subtilis* (T0)
- Botella con cultivo líquido de *Bacillus subtilis* (T1)
- Botella con cultivo líquido de *Bacillus subtilis* (T2)
- Botella con cultivo líquido de *Saccaromyces cerevisiae* (T0)
- Botella con cultivo líquido de *Saccaromyces cerevisiae* (T1)
- Botella con cultivo líquido de *Saccaromyces cerevisiae* (T2)

FECHA RECEPCION MUESTRA: 14 de Febrero del 2011.

ANÁLISIS REALIZADOS:

- Cultivo y conteo de aerobios totales.

CLAVES:

UFC Unidad formadora de colonias.

A:	Amarilla	R:	Redonda	L:	Luminiscente
T:	Transparente	M:	Mediana	Cr:	Creмосa
A/Co:	Amarilla con Centro	I:	Irregular	B:	Blanca
V:	Verde	G:	Grande	Rj:	Roja
V/Co:	Verde con Centro	P:	Pequeña	An:	Anaranjada
Vda:	Verdosa	Co:	Con centro	Rs:	Rosada

Continuación Anexo 7. Concentración de bacterias y levaduras en el sistema digestivo

RESULTADOS DE ANALISIS:

- Cultivo y conteo de aerobios totales (lectura a las 96 horas)

- Botella con cultivo liquido de *Bacillus subtilis*.(T0)

Agar PCA	MORFOLOGÍA COLONIAS BACTERIANAS	UFC	%
	CrIG	13.0 x 10 ³	3.4
	CrRM	1.0 x 10 ³	0.3
	CrRP	15.4 x 10 ³	4.1
	CrRpq	345.7 x 10 ³	92.2
	TOTAL UFC/mL	375.1 x 10 ³	100
		3.7 x10 ⁵	

- Botella con cultivo liquido de *Bacillus subtilis*.(T1)

Agar PCA	MORFOLOGÍA COLONIAS BACTERIANAS	UFC	%
	CrIG	10.0 x 10 ⁵	2
	CrRM	1.0 x 10 ⁵	0.2
	CrRP	22.5 x 10 ⁵	4.8
	CrRpq	438.5 x 10 ⁵	93
	TOTAL UFC/mL	472.0 x 10 ⁵	100
		4.7 x10 ⁷	

- Botella con cultivo liquido de *Bacillus subtilis*.(T2)

Agar PCA	MORFOLOGÍA COLONIAS BACTERIANAS	UFC	%
	CrIG	9.3 x 10 ⁵	1.6
	CrRM	4.5 x 10 ⁵	0.8
	CrRP	1.4 x 10 ⁵	0.2
	CrRpq	579.3 x 10 ⁵	97.4
	TOTAL UFC/mL	594.5 x 10 ⁵	100
		5.9 x10 ⁷	

Continuación Anexo 7. Concentración de bacterias y levaduras en el sistema digestivo

- Botella con cultivo líquido de <i>Saccaromyces cerevisiae</i> (T0)			
- Cultivo y conteo de aerobios totales (lectura a las 96 horas)			
Agar PCA	MORFOLOGÍA COLONIAS LEVADURAS	UFC	%
	CrIG	2.2×10^4	0.5
	CrRG	1.1×10^4	0.3
	CrRM	34.5×10^4	7.8
	CrRP	245.4×10^4	55.8
	CrRpg	156.4×10^4	35.6
	TOTAL UFC/mL	439.6×10^4	100
		$4,4 \times 10^6$	
-Botella con cultivo líquido de <i>Saccaromyces cerevisiae</i> (T1)			
Agar PCA	MORFOLOGÍA COLONIAS LEVADURAS	UFC	%
	CrIG	10.0×10^4	2.0
	CrRG	3.5×10^4	0.7
	CrRM	12.0×10^4	2.4
	CrRP	3.0×10^4	0.6
	CrRpg	462.0×10^4	94.2
	TOTAL UFC/mL	490.5×10^4	100
		4.9×10^6	
-Botella con cultivo líquido de <i>Saccaromyces cerevisiae</i> (T2)			
Agar PCA	MORFOLOGÍA COLONIAS LEVADURAS	UFC	%
	CrIG	56.3×10^4	12.9
	CrRG	244.2×10^4	55.9
	CrRM	35.2×10^4	8.1
	CrRP	2.0×10^4	0.5
	CrRpg	99.3×10^4	22.7
	TOTAL UFC/mL	437.0×10^4	100
		4.4×10^6	

Continuación Anexo 7. Concentración de bacterias y levaduras en el sistema digestivo

NOTA EL CONTEO A LAS 72 HORAS NO SE REALIZO DEBIDO AL ESCASO CRECIMIENTO QUE PRESENTABA. El conteo a las 96 horas permitió obtener un conteo real.

Atentamente

Paula Gloria Pinto B.

Ing. Paula Pinto B.

NOTA: Sólo los reportes con firma y sello de la empresa son válidos.



Resultado de Análisis - Página 2