

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS



**Evaluación de dos niveles de probiótico (*Bacillus subtilis*)  
en alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en fase  
juvenil.**

**POR**

**José Walter Galdámez**

**Rhina Evelyn Sáenz Osorio**

**SAN SALVADOR, SEPTIEMBRE DE 2017**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA



**Evaluación de dos niveles de probiótico (*Bacillus subtilis*)  
en alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en fase  
juvenil.**

POR

José Walter Galdámez

Rhina Evelyn Sáenz Osorio

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:  
LICENCIADO(A) EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SAN SALVADOR, SEPTIEMBRE DE 2017

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR:**

**Lic. M.Sc. Roger Armando Arias Alvarado**

**SECRETARIO GENERAL:**

**Lic. Cristóbal Hernán Ríos Benítez**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**DECANO:**

**Ing. M.Sc. Juan Rosa Quintanilla Quintanilla**

**SECRETARIO:**

**Ing. M.Sc. Luis Fernando Castaneda Romero**

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**

F: \_\_\_\_\_

**Ing. Agr. Ludwing Vladimir Leyton Barrientos**

**DOCENTE DIRECTOR**

F: \_\_\_\_\_

**Ing. Agr. David Ernesto Marín Hernández**

**COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACION**

F: \_\_\_\_\_

**Ing. Agr. Enrique Alonso Alas García**

## RESUMEN

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Capacitación Chinampas, ubicado en la Carretera de Oro km 14 <sup>1/2</sup>, Cantón Cabañas, Ciudad Delgado, San Salvador; tuvo una duración de 63 días, inicio en noviembre del 2015 con alevines de 14 días de edad y finalizó en enero del 2016 teniendo 70 días de vida.

Esta consistió en evaluar el uso de dos niveles de probiótico 1% y 2%, adicionado en el alimento de las tilapias en la fase juvenil. Se utilizaron 540 alevines de la técnica Tilapia Genéticamente Macho con pesos entre 3 – 5 g.

La metodología estadística que se utilizó fue un diseño completamente al azar con nivel de significancia del 5%, dividido en tres tratamientos con 180 alevines; se aplicó la prueba de contrastes ortogonales para comparar cuál tratamiento en estudio produjo los mejores resultados.

Los tratamientos en estudio fueron: **T0** concentrado con 38% proteína, **T1**: concentrado con 38% proteína + 1% probiótico y **T2**: concentrado con 38% proteína + 2% probiótico. Las variables evaluadas fueron: peso, talla, factor de conversión alimenticia e índices de mortalidad.

En la toma de datos la variable peso presentó significancia ( $p < 0.05$ ) obteniéndose un peso final de 45.3 g, 75.3 g y 55 g; la variable talla no presentó significancia ( $p > 0.05$ ) obteniéndose 15 cm, 18 cm y 16 cm; la variable factor de conversión alimenticia presentó significancia ( $p < 0.05$ ) obteniéndose 1.05, 0.95 y 1, y el porcentaje de índice de mortalidad fue de 8.33%, 6.66% y 7.22%.

El estudio se realizó con el fin de comparar el efecto del probiótico en la alimentación de los juveniles (pre-engorde), para lograr en un menor tiempo los pesos establecidos, y así reducir los costos de alimentación.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS** porque sin él este logro no sería posible en mi vida. Por haberme regalado el don de la vida, la sabiduría, la inteligencia y la fuerza para lograr terminar mi carrera universitaria.

**A MI MADRE** por sus oraciones y ser esa fuente de inspiración, perseverancia, insistencia y fortaleza que todo se puede lograr en esta vida; poniéndome en las manos de DIOS y de La Virgen Santísima; te amo mucho Dominga (de cariño), tienes un lugar súper especial en mi corazón. Gracias por ser mi mamá.

**A MI ESPOSA**, mi compañera y amiga en esta travesía (tesis) que estamos culminando, Te amo mucho. Agradezco a DIOS por darme una esposa como tú, para seguir superando etapas de nuestras vidas. Eres única e inigualable.

**A MI FAMILIA** por estarme recordando que tenía que cerrar este ciclo de mi vida y creer en mi persona para lograrlo, se les aprecia y los quiero mucho.

**A MI ASESOR** al Ing. Ernesto Marín Hernández, por haber tenido la paciencia suficiente y confiar en mi persona, mis conocimientos y habilidades como estudiante y profesional, se le aprecia mucho por su confianza y amistad.

**A CHINAMPA** por haber abierto las puertas de la institución y prestar sus instalaciones para realizar la fase experimental de la investigación.

**Bendiciones y mil gracias a todos..!**

**José Walter Galdámez**

## AGRADECIMIENTOS

**A DIOS** todopoderoso por prestarme vida y regalarme sabiduría; y permitirme culminar una de mis metas más anheladas en mi vida.

**A MI PADRE** tú me inspiraste a estudiar esta bellísima profesión; mi amigo, mi compañero de estudio y tareas a lo largo de esta travesía siempre dispuesto a ayudarme, eres el mejor padre del mundo; si volviera a nacer rogaría a DIOS tener la bendición de volver a ser tu hija.

**A MI MADRE** mi bello ángel, eres lo más cercano al cielo que tengo aquí en la tierra. Eres el único ser incondicional en mi vida, mis alegrías, tristezas, triunfos, sueños y fracasos. Por motivarme a ver la luz al final de cada túnel, solo DIOS sabe que haría sin ti.

**A MAMA JUANITA** se que desde el cielo está feliz por mi logro, tu anhelabas verme titulada, como te extraño.

**A MI ESPOSO** eres mi mundo una verdadera bendición en mi vida; mi compañero, mi amigo, mi cómplice; pero sobre todo el amor de mi vida, tiamo lo logramos.

**A MI HERMANA NATHALY** por ser la voz de mi conciencia mi ejemplo y modelo a seguir; mi apoyo moral en los momentos más difíciles de mi carrera.

**A MI HERMANA JAQUELYN** por apoyarme y acompañarme en mis locuras, desde que tengo memoria a la fecha y las que faltan; pero en especial por tu ayuda en uno de los momentos mas cruciales de mi carrera.

**A MI HERMANO VICTOR** por tus útiles consejos.

**A MI HERMANO JEFFERSON** en mis días oscuros tus sonrisas e inocencia fueron motivo de luz; DIOS sabe que eres una bendición en la familia.

**A MI ASESOR** al Ing. Ernesto Marín Hernández por su paciencia, ayuda, consejos y constante interés a lo largo de nuestra tesis.

**A CHINAMPA** por abrirnos grandemente las puertas y apoyarnos en todo lo que estuvo a su alcance, para realizar la fase experimental de nuestro trabajo de investigación.

**Bendiciones y mil gracias a todos..!**

**Rhina Evelyn Sáenz Osorio**

## INDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	<b>iv</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>vi</b>
<b>INDICE GENERAL</b> .....	<b>viii</b>
<b>INDICE DE CUADROS</b> .....	<b>xi</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>1. INTRODUCCION</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISION BIBLIOGRAFICA</b> .....	<b>3</b>
2.1. Situación de la acuicultura a nivel mundial y en El Salvador .....	3
2.2. Importancia económica de la acuicultura .....	4
2.3. Generalidades de la tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	5
2.4. Etapas de vida de la tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	5
2.5. Parámetros físico-químicos del medio acuático .....	6
2.5.1. Temperatura .....	6
2.5.2. Oxígeno Disuelto .....	7
2.5.3. pH .....	8
2.5.4. Turbidez .....	8
2.6. Anatomía externa de la tilapia .....	8
2.7. Anatomía interna de la tilapia .....	9
2.7.1. Tracto gastrointestinal de la tilapia .....	10
2.7.2. Microflora gastrointestinal de la tilapia .....	11
2.8. Hábitos alimenticios de la tilapia .....	11
2.8.1. Requerimientos nutricionales de la tilapia .....	12
2.8.2. Alimentación de alevines .....	14
2.9. Probióticos .....	14
2.9.1. Uso de probióticos en acuicultura .....	15
2.9.2. Mecanismo de acción de los probióticos en la microbiota intestinal .....	16
2.9.3. Probiótico comercial ( <i>Bacillus subtilis</i> ) .....	18

<b>3. MATERIALES Y METODOS</b> .....	<b>19</b>
3.1. Descripción del estudio .....	19
3.1.1. Ubicación geográfica de la investigación.....	19
3.1.2. Duración de la investigación .....	19
3.1.3. Unidades experimentales .....	19
3.1.4. Alojamiento y equipo .....	19
3.1.5. Preparación de los estanques .....	20
3.1.6. Manejo de los estanques.....	20
3.2. Metodología de campo .....	20
3.2.1. Distribución de los tratamientos .....	21
3.2.2. Alimento proporcionado .....	21
3.2.3. Ofrecimiento del alimento y probiótico .....	22
3.2.4. Recolección de datos .....	22
3.3. Metodología de laboratorio .....	22
3.3.1. Manejo y preparación del probiótico.....	22
3.3.2. Análisis bromatológico .....	23
3.3.3. Análisis microbiológico.....	24
3.3.4. Medición de parámetros físico-químicos .....	24
3.4. Metodología estadística.....	25
3.4.1. Diseño estadístico .....	25
3.4.2. Modelo matemático.....	25
3.4.3. Prueba estadística .....	25
3.4.4. Variables en estudio.....	26
3.4.4.1. Peso (g).....	26
3.4.4.2. Talla (cm).....	26
3.4.4.3. Factor de conversión alimenticia .....	26
3.4.4.4. Índice de mortalidad (%) .....	27
3.5. Metodología económica .....	27
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSION</b> .....	<b>28</b>
4.1. Peso .....	28
4.2. Talla .....	29
4.3. Factor de conversión alimenticia .....	31
4.4. Índice de mortalidad .....	33

4.5. Parámetros físico-químicos del medio acuático.....	34
4.5.1. Temperatura .....	34
4.5.2. pH.....	35
4.5.3. Turbidez .....	36
4.5.4. Oxígeno Disuelto .....	37
4.6. Análisis económico.....	38
4.6.1. Datos del experimento .....	38
4.6.2. Presupuesto Parcial .....	38
4.6.3. Análisis de dominancia .....	39
4.6.4. Tasa de retorno marginal .....	39
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>6. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍAS .....</b>	<b>42</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>52</b>

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Alimentación recomendada para cultivos intensivos o semi-intensivos de tilapias en estanques.....	21
<b>Cuadro 2.</b> Cantidad de probiótico (ml) proporcionado durante la investigación a los tratamientos experimentales.....	23
<b>Cuadro 3.</b> Análisis de varianza.....	26
<b>Cuadro 4.</b> Peso de los alevines durante el experimento.....	28
<b>Cuadro 5.</b> Talla de los alevines durante el experimento.....	30
<b>Cuadro 6.</b> Conversión alimenticia de los alevines durante el experimento.....	32
<b>Cuadro 7.</b> Índice de mortalidad de los alevines durante el experimento.....	33
<b>Cuadro 8.</b> Presupuesto parcial.....	39
<b>Cuadro A-1.</b> Cantidad de alimento concentrado y probiótico proporcionado en la investigación por tratamiento.....	52
<b>Cuadro A-2.</b> Resultados de medición parámetros físico-químicos del medio acuático....	55
<b>Cuadro A-3.</b> Cuadro de análisis de varianza (SC tipo III) para ganancia de pesos.....	55
<b>Cuadro A-4.</b> Contrastes de la variable ganancia de peso.....	56
<b>Cuadro A-5.</b> Cuadro de análisis de varianza (SC tipo III) para talla.....	56
<b>Cuadro A-6.</b> Cuadro de análisis de varianza (SC tipo III) para factor de conversión alimenticia.....	56
<b>Cuadro A-7.</b> Contrastes de la variable factor de conversión alimenticia.....	56
<b>Cuadro A-8.</b> Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) para índice de mortalidad...	57
<b>Cuadro A-9.</b> Datos de la investigación.....	57
<b>Cuadro A-10.</b> Análisis de dominancia.....	57

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Anatomía externa de la tilapia .....	9
<b>Figura 2.</b> Anatomía interna de la tilapia .....	10
<b>Figura 3.</b> Peso de los alevines durante las ocho semanas de estudio .....	29
<b>Figura 4.</b> Talla de los alevines durante las ocho semanas de estudio .....	31
<b>Figura 5.</b> Conversión alimenticia de los alevines durante las ocho semanas de estudio ..	33
<b>Figura 6.</b> Índice de mortalidad de los alevines durante las ocho semanas de estudio.....	34
<b>Figura 7.</b> Temperatura del agua de cada tratamiento durante las ocho semanas de estudio .....	35
<b>Figura 8.</b> pH del agua de cada tratamiento durante las ocho semanas de estudio.....	36
<b>Figura 9.</b> Turbidez del agua de cada tratamiento durante las ocho semanas de estudio ..	37
<b>Figura 10.</b> Oxígeno Disuelto del agua de cada tratamiento durante las ocho semanas de estudio .....	38
<b>Figura A-1.</b> Ubicación geográfica del lugar donde se realizó la investigación .....	58
<b>Figura A-2.</b> Estanque donde se llevó a cabo la investigación .....	59
<b>Figura A-3.</b> División del estanque para cada tratamiento.....	60
<b>Figura A-4.</b> Medidas de seguridad para evitar la entrada de depredación .....	61
<b>Figura A-5.</b> Termómetro utilizado para medir la temperatura del agua.....	62
<b>Figura A-6.</b> Tiras reactivas de pH .....	62
<b>Figura A-7.</b> Disco secchi.....	63
<b>Figura A-8.</b> Balanza de reloj .....	63
<b>Figura A-9.</b> Balanza de plato.....	64

<b>Figura A-10.</b> Preparación de los estanques limpieza y desinfección .....	65
<b>Figura A-11.</b> Manejo de estanques y llenado.....	66
<b>Figura A-12.</b> Llegada de los alevines y colocación en los estanques.....	67
<b>Figura A-13.</b> Diseño espacial de los tratamientos .....	67
<b>Figura A-14.</b> Concentrado comercial utilizado en la investigación.....	68
<b>Figura A-15.</b> Recambio y vaciado del agua de los estanques para la toma de muestras	69
<b>Figura A-16.</b> Pesaje de los alevines en balde plástico .....	70
<b>Figura A-17.</b> Medición de la talla de los alevines .....	71
<b>Figura A-18.</b> Hojas de registro de los alevines .....	72
<b>Figura A-19.</b> Probiótico utilizado en la investigación.....	72
<b>Figura A-20.</b> Preparación de las raciones alimenticias con y sin probiótico.....	73
<b>Figura A-21.</b> Análisis bromatológico del concentrado .....	74
<b>Figura A-22.</b> Análisis microbiológico del probiótico .....	75
<b>Figura A-23.</b> Toma de muestra de agua de los estanque para medir el nivel de oxígeno	76
<b>Figura A-24.</b> Medición de la transparencia del agua de los estanques con disco secchi ·	77
<b>Figura A-25.</b> Medición de la acidez del agua de los estanques, con tiras reactivas de pH .....	77
<b>Figura A-26.</b> Medición de la temperatura del agua de los estanques.....	78

## 1. INTRODUCCION

La tilapia *Oreochromis niloticus* es un pez originario del continente africano que en las últimas décadas ha sido introducido prácticamente en todas las regiones del planeta susceptibles de cultivarlo. Su resistencia a enfermedades, su fácil reproducción y su alta adaptabilidad a diferentes ambientes, alimentos y calidades de agua, lo ha hecho una de las especies más populares en la acuicultura de los países en vías de desarrollo (Vega-Villasante *et al.*, 2010).

Se encuentra naturalmente distribuida por América Central, sur del Caribe, sur de Norteamérica y el sudeste asiático (Nicovita, 2002).

La acuicultura ha tenido en los últimos años adelantos significativos en cuanto a la producción de una amplia variedad de organismos, siendo el de mayor explotación comercial la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), la cual se cultiva en sistemas semi-intensivos e intensivos, donde los requerimientos nutricionales son satisfechos mediante dietas artificiales completas con alto porcentaje de proteína (Saavedra, 2006).

Debido a las condiciones de cultivo intensivo donde se empobrecer la calidad del agua y las altas densidades de siembra, las tilapias se encuentren sujetas a un estrés constante que se traduce productivamente en bajas tasas de crecimiento y eficiencia alimenticia, así como la presencia de enfermedades (Günther *et al.*, 2004).

Para sobrellevar estos problemas se ha estudiado el uso de aditivos alimenticios que minimicen los efectos del estrés crónico, reduciendo por el efecto el apareamiento de patologías asociadas. Estos aditivos suelen actuar como promotores de crecimiento, destacando las hormonas, antibióticos, ionóforos y algunas sales entre otros. El uso indiscriminado puede ocasionar efectos adversos al animal (alteraciones hormonales, intoxicación, predisposición a enfermedades) y residuales para el consumidor final (Balcázar, 2002).

Una alternativa viable es la adición de microorganismos benéficos al alimento. Los microorganismos benéficos conocidos como probióticos, mejoran el comportamiento productivo animal sin producir efectos para el consumidor final (Nutrivet, 2009).

Los probióticos son definidos como un aditivo alimenticio microbiano vivo que contribuye al equilibrio microbiano intestinal mejorando la degradación de alimento y actuando como promotores de crecimiento, por su acción sobre el intestino favoreciendo una mayor absorción y utilización de los nutrientes. Estos microorganismos ya instalados en el sistema intestinal inhiben otras poblaciones bacterianas comúnmente oportunistas en patología, y aumentan sus productos terminales, especialmente aminoácidos libres que favorecen el sistema inmunológico de los peces (Lara *et al.*, 2002).

El uso de probióticos en animales es relativamente nuevo, actualmente se utilizan y se realizan estudios en diferentes tipos de producciones pecuarias de las cuales cabe mencionar bovinos, equinos, porcinos, conejos y aves. En pollos de engorde los probióticos se han utilizado para obtener mayor ganancia de peso y mejor conversión alimenticia. En conejos el uso de probióticos ha reducido problemas de enteritis y en cerdos problemas de diarrea, además de las mejoras en ganancia de peso y conversión alimenticia (Barrera Díaz, 2001).

De acuerdo con los resultados obtenidos en distintas especies animales, se infiere la viabilidad de la inclusión de probiótico dentro de la dieta de tilapia, esto con el fin de conocer sus efectos en términos de ganancia de peso, conversión alimenticia, talla e índice de mortalidad en juveniles de Tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*).

## 2. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1 Situación de la acuicultura a nivel mundial y en El Salvador

(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 producción piscícola mundial está sustentada principalmente por organismos dulce acuícolas. En este sentido, la producción de tilapia es el de mayor importancia en la acuicultura tropical, por ser una fuente importante de proteína y generación de divisas en los países con economías menos aceleradas (Fitzsimmons, 2000).

Según la Organización del Sector Pesquero y Acuícola del Istmo Centroamericano (OSPESCA, 2009), la producción mundial de tilapia continúa creciendo año con año, superando en el 2010 los 3.2 millones de toneladas, a pesar de la recesión mundial.

De acuerdo con las cifras reportadas por las autoridades pesqueras y acuícolas de los siete países Centroamericanos, los primeros dos productores de tilapia son Costa Rica (57%) y Honduras (24%), seguidos con una diferencia considerable por Guatemala (8%) y El Salvador (7.4%) (Beltrán, 2012).

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)

Los sistemas empleados para su cultivo van desde los más rudimentarios (extensivos) hasta las granjas tecnificadas (intensivos y super-intensivos), estos son: piscicultura extensiva (1-2 peces/m<sup>2</sup>), piscicultura semi-extensiva (3-5 peces/m<sup>2</sup>), piscicultura semi-intensiva (6-10 peces/m<sup>2</sup>), piscicultura intensiva (11-30 peces/m<sup>2</sup>), y piscicultura super-intensiva (5 mil-10 mil peces/jaula) (Vega-Villasante *et al.*, 2010).

En El Salvador se dispone de 88,026 km<sup>2</sup> de superficie de mar territorial, 69 cuerpos de agua continentales con un área de 529.26 km<sup>2</sup> que se distribuyen entre lagos, lagunas, ríos y embalses. Para la acuicultura se reportan 1,212.9 hectáreas, distribuidas en 1,381 estructuras productivas siendo: estanques, jaulas flotantes, canales y reservorios. Pueden identificarse tres núcleos de distribución de los estanques de tierra: Tacachico-Atiocoyo, la zona sur-occidente: Santa Ana, Ahuachapán y Sonsonate, y la zona de Metapán, Chalatenango y Suchitoto; para un total aproximado de 122.71 hectáreas. Las jaulas se ubican en cuerpos de agua continentales como: el lago de Ilopango 236 jaulas, en el lago de Guija 42 jaulas (sin Aquacorporación); en Ahuachapán 4 jaulas, Chalatenango 6 jaulas, y Cabañas 11 jaulas; para un total de 299 jaulas de diferentes medidas y formas (Tsang *et al.*, 2010).

## **2.2 Importancia económica de la acuicultura**

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2004), la producción de la acuicultura constituye un aporte importante de la demanda de peces y organismos acuáticos para consumo humano. Así, en el 2002 la contribución de la acuicultura fue del 30% de total consumido y se calcula en el 2015 podría llegar hasta el 41%.

Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador (MAG, 2012) la producción de la acuicultura ha variado sustancialmente en la última década, se puede observar que del 2001 al 2003, paso de 395 toneladas a 1,130 toneladas. El valor de la producción aumento de 1.8 millones a 5.4 millones de dólares, reflejando un crecimiento en volumen de 286%; la producción acuícola del año 2008 fue de 3,979,948 kg en la acuicultura continental. El consumo per-cápita tuvo una tendencia creciente en el período, alcanzando en el 2007, 7.95 kg/persona/año. Dentro de las exportaciones nacionales, la pesca y la acuicultura aportan en promedio el 1.48% con una tendencia al alza. Se produce tilapia para tres destinos, mercado local, exportación a Guatemala (varios exportadores) y los Estados Unidos de América (un solo exportador).

La acuicultura ha crecido vertiginosamente en El Salvador, aunque no de manera ordenada; las cifras oficiales reportadas por CENDEPESCA indican que entre 2000 y 2010 el cultivo de tilapia aumentó de 64 a 4,094 Tm (toneladas métricas) que representan un incremento del 6,297%. Las cifras oficiales muestran que en 2010 la acuicultura

representó el 0.15% del Producto Interno Bruto (PIB) nacional, el 1.32% del sector agropecuario y el 15.49% del subsector pesquero y acuícola (Beltrán, 2012).

### **2.3 Generalidades de la tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

La tilapia *Oreochromis niloticus* es un pez originario del continente africano que en las últimas décadas ha sido introducido prácticamente en todas las regiones del planeta susceptibles de cultivarlo. Su resistencia a enfermedades, su fácil reproducción y su alta adaptabilidad a diferentes ambientes, alimentos y calidades de agua, lo ha hecho una de las especies más populares en la acuicultura de los países en vías de desarrollo (Vega-Villasante *et al.*, 2010). Se encuentra naturalmente distribuida por América Central, sur del Caribe, sur de Norteamérica y el sudeste asiático (Nicovita, 2008).

En la actualidad, se han clasificado 77 especies de tilapia, y 100 sub especies; agrupadas en cuatro géneros de acuerdo con sus hábitos reproductivos: *Oreochromis*, *Tilapia*, *Sarotherodon* y *Danakilia*. (INP, 2004; PRODUCE, 2004).

Las especies más cultivadas son *Oreochromis aureus*, *O. niloticus* y *O. mossambicus* y varios híbridos de esta especie. La menos deseable es *O. mossambicus* a pesar de que fue la primera especie en distribuirse fuera de África; tanto *O. aureus*, como *O. niloticus* presentan un crecimiento más rápido y alcanzan mayor tamaño que *O. mossambicus* aunque requieren mayor tamaño para su reproducción (Nicovita, 2002).

**Descripción taxonómica de la tilapia (*Oreochromis niloticus*);** Phylum: Chordata; Sub- phylum: Craneata; Superclase: Gnathostomata; Serie: Pisces; Clase: Actinopterygii; Orden: Perciformes; Suborden: Percoidei; Familia: **Cichlidae**; Género: ***Oreochromis***; Especies: *rendalli*, *zillii*, *aureus*, ***niloticus***, *mossambicus*, *urolepis hornorum* (Baltazar y Palomino, 2004).

### **2.4 Etapas de vida de la tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

El ciclo de vida de la tilapia: comienza con el apareamiento del macho y la hembra, en donde la hembra recoge los **huevos** fertilizados con su boca, y antes de eclosionar son incubados de cinco a siete días dentro de la boca de la madre; luego pasa a la siguiente etapa denominada **jaramugo**, la cual se caracteriza porque presenta un tamaño de 0.5 a 1

centímetros y posee un saco vitelino en el vientre donde se alimenta los primeros días de nacido. Continúa con la siguiente fase llamada **alevín** cuando los peces han absorbido el saco vitelino y comienzan a aceptar alimento balanceado, y han alcanzado una talla de 1 a 5 centímetros de longitud con pesos de 1 a 5 gramos. Sigue su desarrollo a **juvenil** peces con una talla que varía entre 5 a 10 centímetros, la cual alcanza a los dos meses de edad y aceptan alimento balanceado para su crecimiento, finalizando con **adulto** última etapa del desarrollo, los individuos presentan tallas entre 18 a 25 centímetros y pesos de 150 a 300 gramos, características que obtienen alrededor de los tres meses y medio de edad (Baltazar y Palomino., 2004).

## **2.5 Parámetros físico – químicos del medio acuático**

La tilapia es un pez de aguas cálidas, que vive tanto en agua dulce como salobre e incluso puede acostumbrarse a aguas poco oxigenadas (Guerra Bone, 2011).

Poot, *et al.*, 2009, manifiesta que para cultivar tilapia es importante tomar en cuenta las propiedades físico-químicas 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.

### **2.5.1 Temperatura**

La temperatura es un factor que afecta directamente el metabolismo de los animales (Re *et al.*, 2004). A medida que aumenta la temperatura, también aumenta la tasa metabólica y viceversa (Prosser *et al.*, 1986). Al incrementarse la tasa metabólica también lo hace la demanda energética (Clarck *et al.*, 2006), por lo cual, el organismo consume una mayor cantidad de alimento, provocando que la tasa de crecimiento también se vea incrementada. Esto sucede hasta cierto punto, en el cual la temperatura es óptima para que el organismo tenga su mayor tasa de crecimiento. A partir de ese punto, a medida que la temperatura aumente, la tasa metabólica y consumo de alimento seguirán incrementándose, pero la tasa de crecimiento comenzará a disminuir, ya que, aunque el

organismo consuma una mayor cantidad de energía, esta no será utilizada para el crecimiento, sino para satisfacer las necesidades de un metabolismo acelerado.

El rango óptimo oscila entre 25° y 35°C (PRODUCE, 2004). El rango natural oscila entre 20° y 30°C, pudiendo soportar temperaturas menores. La tilapia es altamente tolerante a las altas temperaturas y las temperaturas letales se ubican entre los 10 a los 11°C, y no se alimenta en rangos inferiores a los 16 y 17°C. Para su crecimiento óptimo es necesario temperaturas entre 29 y 31°C (Mariño, 2006).

### **2.5.2 Oxígeno Disuelto**

Uno de los gases fundamentales para los peces es el oxígeno disuelto, el cual es indispensable para la sobrevivencia de los organismos acuáticos. La concentración normal de oxígeno para una correcta producción, es la de 5 ppm (2-3 mg/L), ya que el metabolismo y el crecimiento disminuyen cuando los niveles son bajos o se mantienen por períodos prolongados. La tilapia tiene la habilidad de extraer el oxígeno disuelto, por ello no se recomienda mantener una alta producción de plantas acuáticas superficiales en los mismos estanques, ya que ellas impiden la entrada de oxígeno de la atmósfera, por efecto de los vientos (PRODUCE, 2004).

De acuerdo a Pruginin. 1998; NICOVITA. 2002; Obregón y Duván. 2005, los factores que disminuyen el nivel de oxígeno disuelto son: descomposición de la materia orgánica, alimento no consumido, heces, animales muertos, aumento de la tasa metabólica por el incremento en la temperatura (variación de la temperatura del día con respecto a la noche), respiración del plancton (organismos microscópicos vegetales y animales que forman la cadena de productividad primaria y secundaria), desgasificación: salida del oxígeno del agua hacia la atmósfera, nubosidad: en días opacos las algas no producen suficiente oxígeno y densidad de siembra.

Por otra parte Obregón y Duván. 2005 señalan las consecuencias de las exposiciones prolongadas a valores bajos de oxígeno disuelto: mayor liberación de amonio y heces, competencia por el alimento, tallas heterogéneas, mayor estrés por sobre población, aumenta la conversión alimenticia (relación alimento consumido/aumento de peso), y disminuye la capacidad reproductiva.

### **2.5.3 pH**

El pH ideal oscila entre 5-9, valores fuera de este rango ocasionan aletargamiento, disminución en la reproducción y el crecimiento. Para mantener el pH en este rango, es necesario encalar cuando esté ácido o hacer recambios fuertes de agua y fertilizar si este se torna alcalino (Pruginin. 1998; Popma y Masser. 1999).

Los valores del pH del agua que se recomienda prevalezcan en un cultivo no se refieren tanto a su efecto directo sobre la tilapia, sino más bien a que se favorezca la productividad natural del estanque. Así, el rango conveniente del pH del agua para piscicultura oscila entre 7 y 8, mientras más estable permanezca el pH, mejores condiciones se propiciarán para la productividad natural misma que constituye una fuente importante de alimento para la tilapia cuando el cultivo se desarrolla en estanques (Tovar, s.f.).

### **2.5.4 Turbidez**

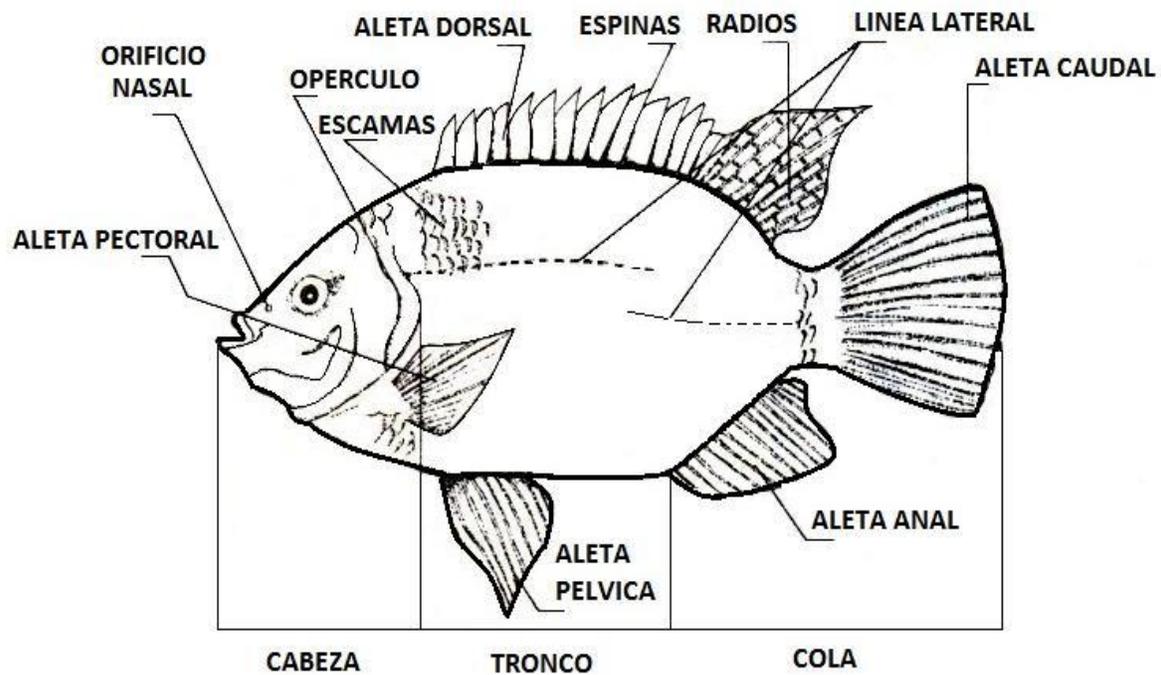
La turbidez del agua tiene dos tipos de efectos: uno sobre el medio y se debe a la dispersión de la luz y el otro actúa de manera mecánica directamente sobre los peces, al impedir la libre penetración de los rayos solares, la turbidez limita la productividad natural del estanque, lo que a su vez reduce la disponibilidad de alimento para la tilapia. Es por ello que se recomienda que el agua de los estanques no sea turbia para que el fitoplancton se pueda desarrollar adecuadamente (PRODUCE. 2004).

La materia coloidal en suspensión puede dañar físicamente las branquias de los peces provocando lesiones e infecciones. En caso de que las aguas sean demasiado turbias (>100 ppm) conviene propiciar su sedimentación previamente a su introducción a los estanques de cultivo, bien sea por medios físicos y/o químicos (Tovar, s.f.).

## **2.6 Anatomía externa de la tilapia**

La tilapia presenta un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza, que sirve simultáneamente como entrada y salida de la cavidad nasal. El cuerpo es generalmente comprimido y discoidal, raramente alargado. La boca es protráctil, ancha y a menudo bordeada por labios gruesos; las mandíbulas presentan dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos. Para su locomoción poseen aletas pares e impares. Las aletas pares las constituyen las pectorales y las ventrales; las impares están constituidas por las aletas

dorsales, la caudal y la anal. La parte anterior de la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas y la parte terminal de radios suaves, disponiendo sus aletas dorsales en forma de cresta (Figura 1). La aleta caudal es redonda, trunca y raramente cortada, como en todos los peces, esta aleta le sirve para mantener el equilibrio del cuerpo durante la natación y al lanzarse en el agua (Saavedra, 2006).

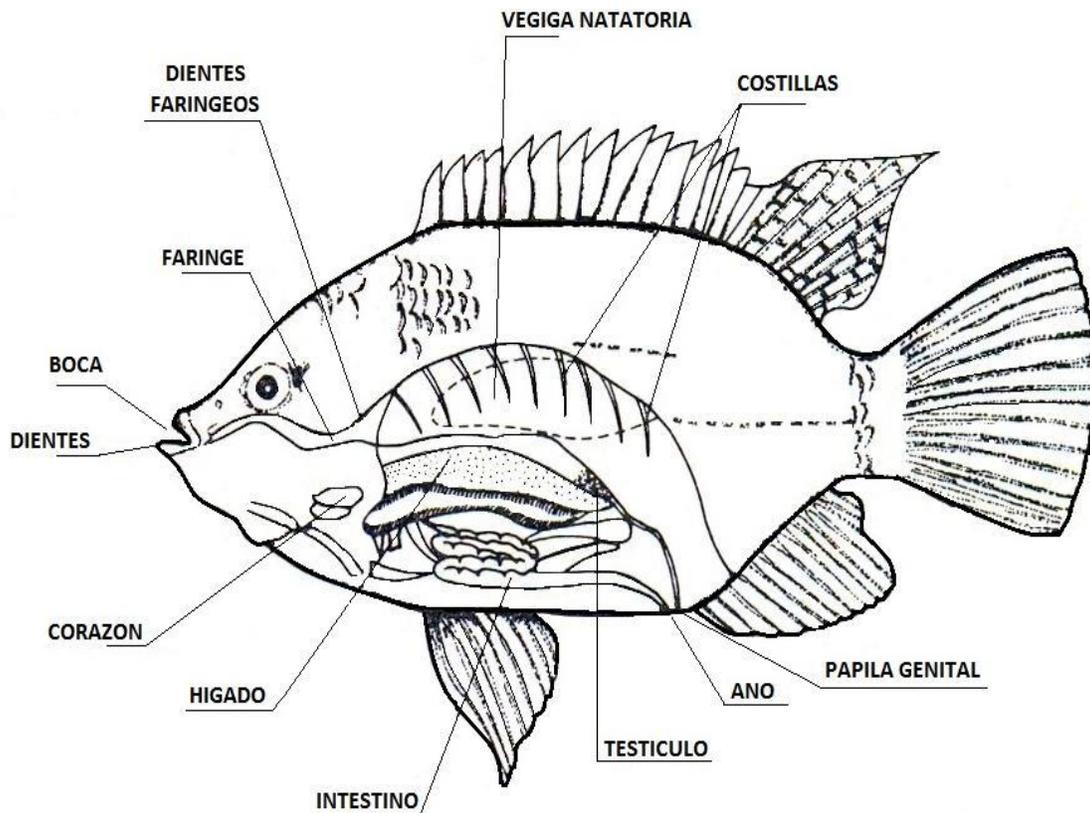


**Figura 1.** Anatomía externa de la tilapia.

Fuente: Lorenzo Manzanares, 2011.

## 2.7 Anatomía interna de la tilapia

El sistema digestivo en la tilapia, se inicia en la boca, que presenta en su interior, dientes mandibulares que pueden ser unicúspides, bicúspides y tricúspides según las distintas especies, continúa en el esófago hasta el estómago, el intestino es de forma de tubo hueco y redondo que se adelgaza después del píloro. Las tilapias son peces provistos de branqui-espinas con los cuales pueden filtrar el agua para obtener su alimentación. Los alimentos ingeridos pasan a la faringe donde son mecánicamente desintegrados por los dientes faríngeos. Esto ayuda en el proceso de absorción en el intestino, el cual mide siete a diez veces más que la longitud del cuerpo del pez (Figura 2) (Tsang y Quintanilla, 2008).



**Figura 2.** Anatomía interna de la tilapia  
 Fuente: Lorenzo Manzanares, 2011.

### 2.7.1 Tracto gastrointestinal de la tilapia

Es un órgano complejo y multifuncional que absorbe y regula de manera endocrina la digestión de metabolitos; además mantiene el balance de electrolitos y del agua, e interviene en el proceso inmunológico del organismo; y se divide en intestino anterior, medio y posterior. Cada una de estas regiones es funcionalmente diferente, se caracteriza por ser largo y delgado, típico de los peces herbívoros y omnívoros, presenta un pH entre 7.5 a 9.0. Debido a las características omnívoras, la tilapia presenta un tracto gastrointestinal diferente tanto en estructura como en funcionamiento comparado con otros peces carnívoros o herbívoros. En estudios realizados se determinó que en la región anterior del intestino se realizan la mayoría de las actividades enzimáticas, microbianas y de absorción (Escobar-Briones, 2006).

### **2.7.2 Micro-flora gastrointestinal de la tilapia**

La microflora gastrointestinal juega un papel importante e influye de manera directa sobre la nutrición y la salud de los animales en general. Por esto mismo, al alterarla se afectan el estatus fisiológico de los organismos incluyendo la inmunidad, el crecimiento y el desarrollo general. (Escobar-Briones. 2006)

Es un proceso gradual que comienza después del nacimiento, siendo la fuente inicial de colonización bacteriana, en los animales acuáticos, está determinada por su contacto con el ambiente circundante, e influida por la ingesta de alimento y la absorción de nutrientes, así como la aparición de proteínas y enzimas digestivas. La variabilidad poblacional dependerá del tipo de dieta ingerida, la edad, la ubicación geográfica, los tratamientos con medicamentos y el estado general del organismo. En este sentido, la micro-flora intestinal de los peces se considera como nativa cuando los microorganismos son capaces de colonizar la superficie epitelial del intestino del hospedero, o en su defecto, transitoria si los microorganismos presentes en el medio circundante no logran permanecer dentro del intestino. Durante toda la vida del animal, esta flora intestinal presenta funciones metabólicas y protectoras (Escobar-Briones, 2006).

### **2.8 Hábitos alimenticios de la tilapia**

Una característica de la mayoría de las tilapias es que aceptan fácilmente los alimentos suministrados artificialmente, en el que se incluyen plantas, desperdicios de frutas, verduras y vegetales, semillas oleaginosas y cereales, todos ellos empleados en forma suplementaria. La base de la alimentación de la tilapia la constituyen los alimentos naturales que se desarrollan en el agua y cuyo contenido proteico es de un 55%, sin embargo, el alimento suplementario no es nutricionalmente completo y no permitirá un buen crecimiento a la tilapia si el alimento natural está totalmente ausente (Saavedra, 2006).

Los organismos vivos son el alimento natural de la tilapia, los cuales son producidos en el agua donde viven, tales como fitoplancton, zooplancton e insectos; la abundancia de estos organismos se incrementa con la fertilización (Tsang y Quintanilla, 2008).

### **2.8.1 Requerimientos nutricionales de la tilapia**

Las tilapias obtienen cantidades suficientes de nutrientes esenciales a través de alimentos disponibles u ofrecidos, para garantizar su normal metabolismo, un crecimiento adecuado, la salud y reproducción, necesitan 44 nutrientes esenciales que incluyen al agua, aminoácidos esenciales, energía, ácidos grasos esenciales, vitaminas, minerales y carotenoides (Llanes *et al.*, 2006).

Los requerimientos de proteína para la tilapia según su peso son los siguientes: para larva hasta 0.5 gramos necesitan entre 40 – 45 % proteína en la dieta, de 0.5 – 10 gramos de peso necesitan en su alimentación entre 35 – 40 % de proteína, de 30 – 250 gramos de peso necesitan entre 30 – 35 % de proteína en la dieta y de 250 gramos – a talla de mercado la tilapia necesita en su dieta un nivel de proteína entre 30 – 25 % (Nicovita 2008).

Los lípidos constituyen el mayor recurso energético (hasta 2.25 veces más que la proteína), y está muy ligado al nivel de proteína en la dieta. Así para niveles de 40% de proteína se recomienda niveles de grasa de 6 a 8%. Con 35% de proteína el nivel de grasa es de 4.5 a 6 % y con niveles de 25 a 30% de proteína se recomienda de 3-3.5% de grasa. Como fuente de ácidos grasos esenciales se recomienda para tilapia utilizar niveles de 0.5 a 1% de omega 3 y un 1% de omega 6. Las grasas requeridas para los peces son polinsaturadas, livianas y fácilmente asimilables. La relación proteína-grasa es crucial para cualquier dieta, un exceso de grasas en el alimento contamina el agua y un nivel insuficiente afecta el crecimiento. Otro elemento importante de la dieta son los carbohidratos la fuente más barata de energía; además de contribuir en la conformación física del pellet y su estabilidad en el agua, los niveles de carbohidratos en la dieta de tilapia deben de estar alrededor del 40%. (Meyer y Mejía, 1993).

Los aminoácidos esenciales para un óptimo desarrollo de tilapia están: Arginina, Histidina, Isoleucina, Lisina, Leucina, Metionina, Fenilalanina, Treonina, Triptófano, Valina; encontrándose también, las vitaminas importantes dentro de los factores de crecimiento, ya que catalizan todas las reacciones metabólicas; los peces de aguas cálidas requieren entre 12 - 15 vitaminas en su dieta; encontrándose: Tiamina, Riboflavina, Piridoxina, Acido pantoténico, Niacina, Biotina, Ácido fólico, Cianocobalamina, Inositol, Colina, Ácido ascórbico; al igual los minerales son fundamentales ya que afectan los procesos de osmorregulación (intercambio de sales) a nivel de las células, también influyen en la

formación de huesos, escamas y dientes; como: calcio, fosforo, magnesio, potasio, hierro, manganeso, cobre, selenio, cromo (Meyer y Mejía, 1993).

Hasta hace unos años, la principal finalidad de los alimentos era proveer los nutrimentos necesarios para la obtención de un crecimiento máximo, sin embargo, actualmente las dietas tienen el propósito de fungir además como alimentos funcionales, esto es, que su influencia no solo comprenda el crecimiento de los organismos, sino que ésta se extienda a incrementar la salud y la resistencia al estrés y a los agentes causantes de enfermedades dentro de los sistemas de cultivo (SAGPyA, 2008).

El estrés ambiental afecta significativamente la utilización y flujo de energía en un organismo debido a que hay un efecto directo sobre su metabolismo. El estrés generalmente se presenta en sistemas de cultivo, ya que los organismos están expuestos a condiciones variables o francamente adversas de varios parámetros, como por ejemplo: temperatura, salinidad, OD, densidad, metabolitos tóxicos, entre otros. También las actividades comunes en una granja como: manipulación de organismos en biometrías, limpieza de tanques de cultivo, recambio de agua, etc., provocan un estrés adicional a los organismos. Por otro lado, en el ambiente marino, difícilmente existirán este tipo de condiciones debido a que la mano del hombre no modifica las condiciones ambientales; aunque el medio trae consigo sus propias condiciones estresantes como la pesca, competencia por alimento, presencia de depredadores, descarga de aguas residuales al mar, fenómenos naturales (“el Niño”, mareas rojas), entre otros (Beamish *et al.*, 1996).

El estrés provoca un aumento significativo en la demanda energética debido al aumento en el metabolismo y a las reacciones de alarma que emite el sistema nervioso al percibir un estado de estrés. Los peces sometidos a condiciones de estrés aumentaban su consumo de glucosa hasta por 30 veces. En los sistemas de cultivo, los organismos no pueden huir de condiciones sub-óptimas (si las hay), por lo que deben llevar a cabo ajustes metabólicos tales como el aumento en la secreción de hormonas como el cortisol, proteínas del shock térmico, etc. La síntesis y acción de estas hormonas conlleva un incremento en la demanda energética (Barton *et al.*, 1991)

## **2.8.2 Alimentación de alevines**

Son alimentados con raciones balanceadas, la cantidad de alimento se va aumentando según el peso promedio y el consumo alimenticio de los alevines, equivalente del 10% - 15 % de su biomasa, con raciones distribuidas entre ocho a diez veces diarias (Tsang y Quintanilla, 2008).

El éxito de producción de tilapias depende de la eficiencia en el cultivo, principalmente del manejo del alimento y técnicas de alimentación considerando la calidad y cantidad de alimento suministrado. La tilapia es omnívora y su requerimiento y tipo de alimento varía con la edad del pez. Durante la fase juvenil pueden alimentarse tanto de fitoplancton, zooplancton así como de pequeños crustáceos (Baltazar y Palomino, 2004).

Según Lozano. 2001, el mejor horario para alimentar a los peces está entre las 10 horas y 15 horas 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.

## **2.9 Probiótico**

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

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud y en la fisiología del hospedero. Una forma de actuar de los probióticos para lograr alcanzar un buen estado de salud del individuo, es a través de la resistencia otorgada contra la invasión de microorganismos patógenos, que se logra mediante la generación de sustancias antimicrobianas como ácido láctico y otros ácidos de cadena corta (Ruiz Gramajo, 2007). Según International Life Science Institute, Bruselas (ILSI), 1998, los probiótico son: "Microorganismos vivos que cuando son ingeridos en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud, lo que va más allá de los efectos nutricionales convencionales" (Ruiz Gramajo, 2007).

En acuicultura el término probiótico se define como un suplemento microbiano formado por un cultivo simple o una mezcla de microorganismos que son adicionados con el

propósito de manipular las comunidades microbianas presentes en los sistemas de producción (Balcázar, 2002).

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

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).

### **2.9.1 Uso de probióticos en 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; Verschuere *et al.* 2000; Sullivan, 2001). Estos son considerados como GRAS (“Generalmente reconocido como seguros”), reduciendo de este modo la necesidad de ensayos de seguridad biológica, inevitables para garantizar que la implementación de aislados probióticos no va a causar daños colaterales a los organismos cultivados ni al consumidor final (Holzapfel *et al.*, 1998).

En acuicultura el primer probiótico usado comercialmente se registró en 1992 y fue una cepa no patógena de *Vibrio alginolyticus* que permitió mejorar sustancialmente el rendimiento en viveros de camarones en Ecuador y México (Monroy Dosta *et al.*, 2012).

Un número creciente de probióticos comerciales están siendo ofrecidos para satisfacer la demanda de prácticas ambientalmente amigables para el desarrollo de una acuicultura sustentable (Gatesoupe, 1994). Pese a los numerosos trabajos publicados en los últimos años, el uso de los probióticos en acuicultura sigue siendo ampliamente empírico, y sólo en pocos casos se ha podido establecer el efecto real del agente probiótico en el cultivo (Günther y Montealegre, 2004).

El uso de probióticos como bacterias ácido lácticas (LAB) está relativamente bien establecido en otras especies animales; destacándose el aumento de tamaño y peso, el establecimiento de un equilibrio microbiano intestinal, así como la mejora de algunas respuestas inmunes. En peces, las LAB se han descrito como parte de la microflora normal de los organismos (Wallace y Newbold, 1992).

(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.

### **2.9.2 Mecanismo de acción de los probiótico en la microbiota intestinal**

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).

(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 micro-flora intestinal balanceada.

Dentro de los probióticos bacterianos, la posición de *Bacillus subtilis* es única ya que las esporas son formas de vida latentes que pueden sobrevivir en un estado de desecación, deshidratación indefinida, estrés físico, temperaturas altas, radiación Ultra Violeta, químicos, etc. Los bacilos pueden llegar a vivir dentro de los límites de temperatura de 55 a 90°C y un pH bastante ácido (pH = 3) (Rojas. 2008; Kőrösi *et al.*, s.f.).

Los probióticos tienen que presentar diversos modos de acción que ejercen efectos positivos en el hospedero como lo son producción de compuestos inhibidores capacidad de liberar sustancias químicas con efecto bactericida o bacteriostático, constituyendo una barrera contra patógenos oportunistas. Compuestos tales como bacteriocinas, lisozimas, antibióticos, sideróforos, proteasas, peróxido de hidrógeno, ácidos orgánicos, entre otros. Bacterias lácticas por ejemplo producen bacteriocinas que inhiben el crecimiento de bacterias, especialmente gram positivas. El *Bacillus sp.*, se caracteriza por ser productor de compuestos antibióticos (Cedeño. 2007).

Entre otros tipos de microorganismos que se utilizan como probióticos se encuentran las bacterias ácido láctico, ya que representan una parte importante en la flora gastrointestinal de los animales y juegan un papel importante en la inhibición o eliminación de microorganismos patógenos (Escobar-Briones. 2006).

Por otra parte previenen o reducen el efecto dañino causado por la excreción de los animales mejorando el medio ambiente, crean condiciones favorables en el intestino delgado bajo el control o modulación de la población bacteriana de los animales para mejorar la digestión de los alimentos; mejoran el olor, sabor y la preservación de los alimentos para personas y animales; actúan colonizando el intestino delgado y desplazando los organismos causantes de enfermedades, por lo cual restauran el equilibrio adecuado de la flora intestinal, estimulando el sistema inmunológico del cuerpo para combatir varias enfermedades gastrointestinales (Santamaría. 2004).

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).

### **2.9.3 Probiótico comercial ( *Bacillus subtilis* )**

El probiótico líquido es un producto de fermentación compleja a base de la bacteria *Bacillus subtilis*, que tiene múltiples aplicaciones en el ámbito alimenticio, farmacológico y ecológico. Es una bacteria no patógena, la cual produce un sin fin de enzimas, materias relacionadas con ácidos nucleicos, glucopéptidos y lipasas (Nutrivet, 2009).

Las bacterias del género *Bacillus* microbiológicamente son consideradas como Gram positivas en forma de bastoncillo, agrupadas en cadenas, mótils y flagelación peritrica, 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).

El probiótico tiene muchas bondades, ya que mejora la asimilación de los nutrientes que se les brinda a los peces; mejora el gusto del alimento ya que tiene un componente a base de la descomposición proteica, en forma de péptido, que hace que la digestión sea optima, con una excelente absorción. Los ingredientes del probiótico comercial son: microorganismos (*Bacillus subtilis*) al 1%, es decir un millón de UFC/ml como ingrediente activo, y como ingredientes inactivos esta: el agua en un 96%, melaza y nutrientes al 3%. El probiótico se aplica al alimento concentrado o al agua del estanque para mejorar la conversión alimenticia y disminuir la carga de materia orgánica en el estanque (Guerra Bone, 2011).

La cepa de *Bacillus subtilis* se encuentra catalogada como un promotor de crecimiento e inmunoestimulante. De acuerdo con estudios clínicos documentados en “the medical research report, immune-stimulation by *Bacillus subtilis* preparations” desarrollado por el microbiólogo J. Harmann, los componentes de la pared celular del *Bacillus subtilis*, activa el sistema inmunológico, incluyendo la activación de anticuerpos específicos que son sumamente eficaces contra muchos virus, hongos y bacterias patógenas (Sacred Mountain Management, Inc. 1997).

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Descripción del estudio

##### 3.1.1 Ubicación geográfica de la Investigación

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Capacitación Chinampas ubicado en la Carretera de Oro sobre el km 14 <sup>1/2</sup>, Cantón Cabañas, Ciudad Delgado, San Salvador; geográficamente se ubica 501 msnm y a una latitud Norte 13°46'10.07"N y una longitud Oeste 89°9'41.89"O (Figura A-1), con temperatura: mínima de 27°C y máxima de 32°C.

##### 3.1.2 Duración de la investigación

La fase de campo de la investigación tuvo una duración de 63 días (nueve semanas), inicio el 23 de noviembre del 2015 con alevines de 14 días de edad y finalizó el 18 de enero del 2016 teniendo 70 días de edad los juveniles.

##### 3.1.3 Unidades experimentales

Se utilizaron 540 alevines de la especie *Oreochromis niloticus* de la técnica Tilapia Genéticamente Macho (GMT) en un 99.9%, con un peso entre los rangos de 3 - 5 g.

##### 3.1.4 Alojamiento y equipo

Las unidades experimentales fueron albergadas en un estanque de concreto recubierto con geomembrana con dimensiones: largo 7.45 m, ancho 5 m y profundidad de 1.1 m, totalizando un volumen de 40.975 m<sup>3</sup> (Figura A-2). Se realizó en el estanque tres divisiones de madera revestidas de geomembrana con un área funcional para 180 alevines con volumen de 12.40 m<sup>3</sup> y dimensiones de: largo 2.48 m, ancho 5 m y profundidad de 1 m, se sembró 14.5 alevines por metro cuadrado (Figura A-3). Para mantener un manejo controlado, se colocó redcilla (cedazo) alrededor de todo el estanque para evitar la depredación por aves silvestres, roedores y mamíferos de la zona (Figura A-4).

El equipo utilizado para el monitoreo-medición de los parámetros físicos-químicos y variables de la investigación fueron los siguientes: para medir la temperatura se utilizó un termómetro ambiental de vidrio que mide en rango de -20°C hasta 110°C (Figura A-5); el pH se emplearon tiras reactivas Hydrion Test Papers que midieron el grado de acidez del

agua desde 1.0 - 14.0 unidades (Figura A-6); la turbidez se utilizó un disco secchi para medir la transparencia del agua de cada estanque (Figura A-7) ; una báscula de reloj con capacidad para 40 libras para la toma de peso (Figura A-8); una regla graduada de 20 centímetros para medir la talla; y para elaborar las raciones de alimento de los alevines se utilizó una báscula de plato (Figura A-9).

### **3.1.5 Preparación de los estanques**

Para prevenir incidencia de microorganismos patógenos que afectaran el desarrollo de los alevines, los estanques se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio a una concentración del 4% dejando actuar por 24 horas, posteriormente se lavaron y retiró el agua con el químico, dando un periodo de esterilización por rayos del sol durante siete días (Figura A-10).

### **3.1.6 Manejo de los estanques**

En esta fase se prepararon los tres estanques protegidos con geo-membrana, se llenaron a un nivel de 1 metro de agua que procedía de un pozo ubicado en las instalaciones; la cual era bombeada y conducida por un sistema de mangueras de 10 metros de largo con diámetro de 1.5 pulgadas (Figura A-11). Los recambios de agua fueron del 60% con una frecuencia de siete días, para mejorar la calidad del medio acuático y eliminación de sedimentos orgánicos en el fondo de los estanques.

## **3.2 Metodología de campo**

Los alevines fueron trasladados desde el distrito de riego Atiocoyo Sur, en bolsas plásticas donde se usó 25% de agua, 50% de oxígeno y el otro 25% para amarre con banda de hule al lugar de la investigación; durante horas frescas (por la mañana), con la finalidad de evitar cambios bruscos de temperatura y altas mortalidades.

El día del recibimiento, los alevines se colocaron en el cuerpo de agua del estanque la bolsa con oxígeno cerrada durante 10 minutos para igualar las temperaturas (evitando un choque térmico) (Figura A-12).

Luego se procedió a abrir las bolsas para formar los tres tratamientos en estudio de 180 alevines, y antes de ser colocados en su respectivo estanque fueron pesados y medidos

con el fin de determinar el inicio del estudio, y se realizó la medición de las variables cada siete días, tomando una muestra del 30% de su biomasa (54 alevines) por tratamiento.

### 3.2.1 Distribución de los tratamientos

De acuerdo al proceso de azarizado empleado para su ubicación: **T0** o testigo concentrado, **T1**: concentrado + el 1% de probiótico y **T2**: Concentrado + el 2% de probiótico (Figura A-13).

### 3.2.2 Alimento proporcionado

Se utilizó un concentrado comercial a base de trigo, maíz y harina de soya en forma de pellet flotantes con un 38% de proteína (Figura A-14). La cantidad de alimento ofrecido fue de acuerdo a la biomasa y al porcentaje de alimento que fue variando según el peso y la edad del alevín formulada cada semana, tomando de referencia el Cuadro 1, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Biomasa} = \text{peso promedio} \times \text{número de peces}$$

$$\text{Ración} = \frac{\text{biomasa} \times \text{porcentaje de alimento (\%)}}{100}$$

**Cuadro 1.** Alimentación recomendada para cultivos intensivos o semi-intensivos de tilapia en estanques.

Peso (g)	Edad (semanas)	Porcentaje de alimento (%)
2-4	1	10.0
5-10	2	9.0
11-15	3	6.0
16-20	4	5.0
21-30	5	4.0
31-40	6	3.5
41-60	8	3.2
61-80	10	3.0
81-105	12	2.5
106-120	14	2.2
121-160	16	1.8
161-225	18	1.5

Fuente: Tsang *et al.*, 2010.

### **3.2.3 Ofrecimiento del alimento y probiótico**

Las distintas raciones de alimento concentrado fueron ofrecidas en tres diferentes horas del día; a las: 7:00 a.m., 11:00 a.m. y 3:00 p.m., incluyendo las raciones de alimento a las que se les adicionó probiótico al 1% y 2%. La alimentación fue ajustada cada siete días, realizándose ocho veces durante el experimento (Cuadro A-1).

### **3.2.4 Recolección de datos**

La primera actividad a realizar era la determinación de mortalidad en cada tratamiento en estudio. El día que se realizaba la medición de las variables y parámetros la primera ración de alimento no se proporcionaba, alimentando hasta las 11:00 a.m.

Con ayuda de mangueras de 10 metros de largo con 1.5 pulgadas de diámetro, se procedió a vaciar cada uno de los estanques hasta un nivel de 20 centímetros (Figura A-15), para hacer más fácil la recolección de la muestra.

Posteriormente con un lumpen se capturó una muestra de 54 alevines depositándose en un pequeño balde de plástico con agua y luego se procedió a pesarlos en una báscula de reloj (previamente se calculó el peso del balde con el agua y la diferencia era el peso de los alevines) (Figura A-16), Después se procedió a la medición de la talla de los 54 alevines, la cual se realizó con una regla graduada de 20 centímetros (Figura A-17).

Finalizando con el llenado de los estanques a un nivel de 1 metro e incorporación de los alevines a su respectivo tratamiento; todos los datos eran registrados en formatos previamente elaborados (Figura A-18).

## **3.3 Metodología de Laboratorio**

### **3.3.1 Manejo y preparación del probiótico**

El probiótico comercial a base de la bacteria *Bacillus subtilis* (Figura A-19) empleado en el desarrollo de la investigación se adquirió en presentación líquida un galón del producto, y se recomendó estar alimentando a los microorganismo cada tres días con 5 milímetros de melaza diluida para que la bacteria no se inactivará.

El probiótico fue aplicado diariamente a la ración de alimento con bomba de aspersión de 250 milímetros, procurando que este se adhiriera lo más homogéneamente posible, dejándose durante 30 minutos a temperatura ambiente (Figura A-20); la cantidad de probiótico proporcionado en la investigación se balanceo conforme al alimento utilizado por semana a cada tratamiento en estudio (en este caso solo al tratamiento 1 y tratamiento 2 se les aplicó probiótico) (ver cuadro 2).

**Cuadro 2.** Cantidad de probiótico (ml) proporcionado durante la investigación a los tratamientos experimentales por semana y día.

Semanas	Tratamiento 1 (1% probiótico)		Tratamiento 2 (2% probiótico)	
	Cantidad probiótico ml x semana	Cantidad probiótico ml x día	Cantidad probiótico ml x semana	Cantidad probiótico ml x día
0	5.04	0.72	8.82	1.26
1	12.85	1.84	13.61	1.94
2	13.61	1.94	15.12	2.16
3	14.18	2.03	18.90	2.70
4	16.63	2.38	22.18	3.17
5	19.23	2.75	24.78	3.54
6	21.81	3.12	29.84	4.26
7	24.57	3.51	34.78	4.97
8	28.46	4.07	41.58	5.94

### 3.3.2 Análisis bromatológico

Se realizó un análisis bromatológico en el laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

Para determinar los niveles de: % de humedad total, % de proteína cruda, % de cenizas, % de extracto etéreo, % de fibra cruda y % de carbohidratos. Obteniéndose que el nivel de proteína cruda determinado por el análisis fue de 37.71%, valor que difiere en lo mínimo según la viñeta del concentrado comercial que era de un nivel de proteína cruda de 38% (Figura A-21).

### **3.3.3 Análisis microbiológico**

Se realizó un análisis microbiológico en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

El análisis microbiológico solicitado consistió en la identificación de bacterias de una muestra líquida del producto, donde a través de la técnica de coloración de Gram se aisló bacilos largos Gram (+); encontrándose presencia de la bacteria *Bacillus subtilis* en el probiótico empleado en la investigación (Figura A-22).

La tinción de Gram clasifica las bacterias en dos grupos taxonómicos: bacterias grampositivas (por ejemplo cocos), que se colorean de azul oscuro o negro, y bacterias gramnegativas (por ejemplo, coliformes y pseudomonas), que tienen un color rosa (Amstutz *et al.*, 2000).

### **3.3.4 Medición de parámetros físicos químicos**

Se realizaba cada semana de la siguiente manera:

Iniciando a las 6:00 a.m., se procedió a la toma de muestra de agua de cada estanque que conformaban el experimento, llenando cuidadosamente un recipiente plástico de 1,000 milímetros sin contener burbujas, y colocando la muestra en una hielera con abundante hielo para guardar sus propiedades lo mejor posible, y fue llevada al laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, para determinar el nivel de oxígeno presente (Figura A-23).

Posteriormente a las 6:30 a.m., se procedió a la medición de la turbidez o transparencia del agua de cada estanque, para realizar esta medición se utiliza el disco secchi, para determinar la penetración luminosa del medio acuático (Figura A-24).

Luego a las 8:00 a.m., se midió el pH del medio acuático de cada estanque que conformaban el ensayo, sujetando pequeñas tiras reactivas Hydrion Test Papers en cada estanque durante 45 segundos para dar una lectura del grado de acidez o alcalinidad (Figura A-25).

Finalizando a las 9:00 a.m., con la medición de la temperatura del agua de cada tratamiento en estudio, sujetando el termómetro ambiental de vidrio que mide en rango de

-20°C hasta 110°C con un cordel a una profundidad de 12 centímetros durante dos minutos para dar una lectura (Figura A-26) (Cuadro A-2).

### **3.4 Metodología estadística**

#### **3.4.1 Diseño estadístico**

Para la investigación se utilizó un diseño completamente aleatorio o al azar, dividido en tres tratamientos; ya que la investigación las unidades experimentales reúnen las características más homogéneas posibles.

#### **3.4.2 Modelo Matemático**

Formula:  $Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$

**Dónde:**  $Y_{ij}$  = Característica bajo estudio observado en la parcela " j " y donde se aplicó el tratamiento " i".

$\mu$  = Media experimental

$T_i$  = Efecto de tratamiento "i".

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental de la celda (i,j)

i = 1,2,....., a = número de tratamientos

j = 1,2,....., r = número de repeticiones de cada tratamiento.

#### **3.4.3 Prueba estadística**

Los datos que se obtuvieron se les realizó análisis de varianza, mediante el programa InfoStat® versión 2016; con un nivel de significancia del 5% para cada tratamiento (Cuadro 3). Para los tratamientos que mostraron diferencias significativas en el análisis de varianza, se aplicó la prueba de contrastes ortogonales al 5%, para determinar que tratamiento en estudio está produciendo los mejores efectos.

**Cuadro 3.** Análisis de varianza

Fuente de variación	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Tratamiento	a-1 = 2	$1/n \sum Y_i.^2 - Y.^2/na$	S.C. TXS/a-1	<u>C.M. TXS</u>
Error experimental	a(n-1) = 12	S.C.TOTAL- S.C. TRAT	S.C.ERROR EXP/ a(a-1)	C.ME.
TOTAL	an-1= 14	$\sum \sum y^{2ij} - Y.^2./ra$		

Fuente: Chou, 1972.

### 3.4.4 Variables en estudio

La variable independiente fue el probiótico, y las variables dependientes fueron: peso, talla, factor de conversión alimenticia e índices de mortalidad. Las variables calculadas fueron:

#### 3.4.4.1 Peso (g)

Se midió cada siete días el 30% de los alevines (54) de la biomasa total de cada tratamiento, capturándose con un lumpen, y fueron pesados con una báscula de reloj, para obtener su peso promedio; a través de la fórmula:

$$\text{Peso Promedio} = \text{peso total de la muestra} / \text{número de peces de la muestra}$$

#### 3.4.4.2 Talla (cm)

Se realizó la medición de la longitud del cuerpo desde la aleta caudal hasta el vértice de la cabeza, con una regla graduada de 20 cms, cada siete días donde se comparó la talla de siembra con la talla obtenida en ese periodo de muestreo.

#### 3.4.4.3 Factor de conversión alimenticia

Se midió cada siete días, y se obtuvo mediante la cantidad de alimento suministrado entre cada periodo y el incremento de peso, para determinar la conversión de los alimentos proporcionados a los alevines, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{F.C.A} = \frac{\text{Cantidad de alimento suministrado en el periodo}}{\text{Incremento del peso de la población en el periodo}}$$

#### 3.4.4.4 Índices de mortalidad (%)

Esta se tomó de acuerdo a la densidad de siembra inicial de los alevines con la cantidad de alevines al final de la investigación. Llevándose un registro de cada alevín que moría.

$$\text{I.M (\%)} = \frac{\text{Población inicial} - \text{Población final}}{\text{Población inicial}} \times 100$$

### 3.5 Metodología económica

Para el análisis económico o para determinar la mejor relación beneficio-costos de los tratamientos en estudio se implementó un análisis de presupuesto parcial; que es el instrumento que se utiliza para organizar los datos experimentales con el fin de obtener los ingresos, costos y los beneficios de los diferentes tratamientos alternativos. Para referenciar el estudio económico se basó en el precio de venta de las tilapias para poder determinar la relación beneficio-costos, se utilizaron para ello los costos variables de los concentrados en cada tratamiento.

En el análisis de dominancia se utilizaron los costos que varían de menor a mayor de cada uno de los tratamientos y se les colocó a la par su respectivo beneficio neto para determinar cuál de los tratamientos era dominado.

Para el cálculo de la tasa de retorno marginal se utilizaron aquellos tratamientos que no fueron dominados, y consistió en dividir el incremento de los beneficios netos entre los costos que varían de los tratamientos; esto permitió obtener el porcentaje que se espera retorne al cambiar de un tratamiento a otro.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 Peso

El análisis de varianza, para la variable peso preciso diferencia estadística, para los tratamientos en estudio, ya que resultaron significativos ( $p < 0.05$ ); por lo tanto los tratamientos producen diferencias en el peso, es decir que al menos uno de los tratamientos produce los mejores efectos (Cuadro A-3). En los resultados de la prueba estadística, el  $C_1$  es significativo, es decir que el T1 y T2 producen los mejores efectos en el peso respecto al T0 (Cuadro A-4).

En base a los resultados de la prueba estadística, el tratamiento con mejor ganancia de peso es el T1. Como se observa en el cuadro 4, se presenta la ganancia de peso sobre cada tratamiento durante todo el ensayo, observándose que la mayor ganancia la obtuvo el T1 correspondiente al tratamiento experimental con *Bacillus subtilis* al 1%, alcanzando un peso de 75.3 g, el T2 con *Bacillus subtilis* al 2% alcanzo un peso de 55 g; mientras que el T0 o testigo alcanzo un peso de 45.3 g.

**Cuadro 4.** Peso de los alevines durante el experimento

Tratamientos	g	Probabilidad
T0 o Testigo concentrado	45.3 <sup>c</sup>	0.0231*
T1 concentrado + 1% probiótico	75.3 <sup>a</sup>	
T2 concentrado + 2% probiótico	55 <sup>b</sup>	

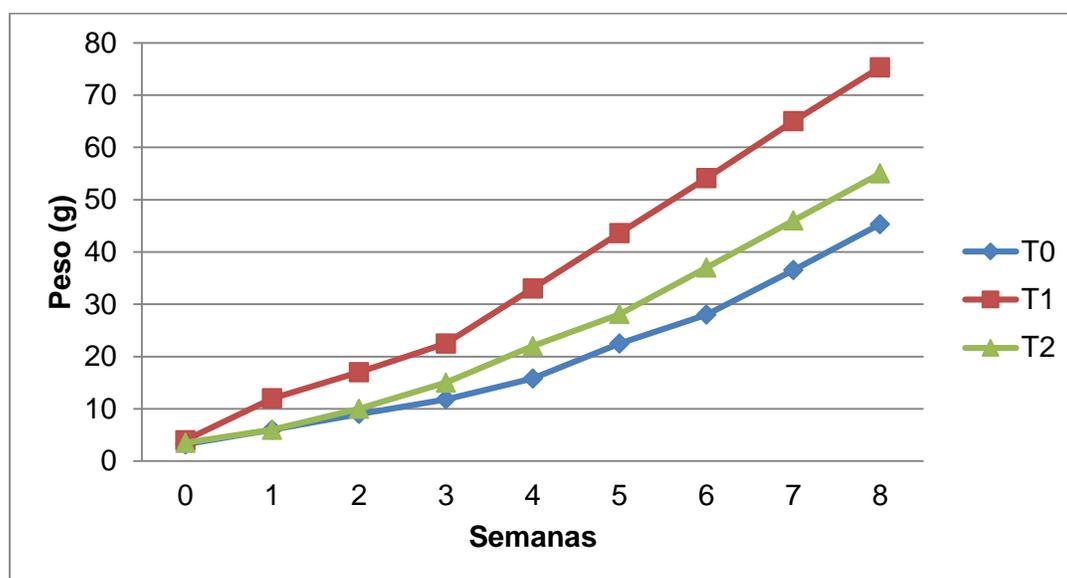
<sup>a b c</sup> distintas letras en una misma columna, indica diferencia entre los pesos.

\*datos con probabilidad  $< 0.05$  presentan diferencia significativa.

Estos datos concuerdan con los obtenidos por Guerra Bone, LG. 2011, quien evaluó el efecto de la adición de un probiótico al 1% (*Bacillus subtilis*) en la alimentación de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), durante la fase juvenil, el estudio genero como resultado una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) donde el tratamiento 1, correspondiente al tratamiento experimental (adición de probiótico al 1%) alcanzo un peso de 74.13 g, mientras que el tratamiento testigo (al que no se le adicionó probiótico) alcanzo un peso de 63.68 g al concluir con el experimento.

Estos resultados coinciden con los registrados por Tsang *et al.*, 2010 en sus tablas de rendimiento nutricional en cultivos semi-intensivos e intensivos de tilapia nilótica, en la que a la novena semana de desarrollo fisiológico del alevín debe alcanzar un peso promedio de 70 g. Los resultados de la investigación concuerdan con los obtenidos por Tsang *et al.*, 2010 en la que el aumento de peso de los tratamientos con probióticos fue mayor al tratamiento control.

La figura 3, representa los diferentes pesos que los alevines adquirirían en cada semana de estudio, resultando una línea de tendencia marcada en el T1, observándose mayor desde la primera semana del ensayo, sobre los otros tratamientos en estudio.



**Figura 3.** Peso de los alevines durante las ocho semanas de estudio.

#### 4.2 Talla

El análisis de varianza para la variable talla no precisó diferencia estadística ( $p > 0.05$ ) para los tratamientos en estudio; por lo tanto los tratamientos no producen diferencias en las tallas (Cuadro A-5).

Como se observa en el cuadro 5, se representa la talla durante todo el ensayo, observando que la mayor talla la obtuvo el T1, correspondiente al tratamiento

experimental alcanzando una talla de 18 centímetros, el T2 alcanzo una talla de 16 centímetros; mientras que el T0 o testigo alcanzo una talla de 15 centímetros, pero a nivel estadístico esta diferencia es no significativa.

**Cuadro 5.** Talla de los alevines durante el experimento

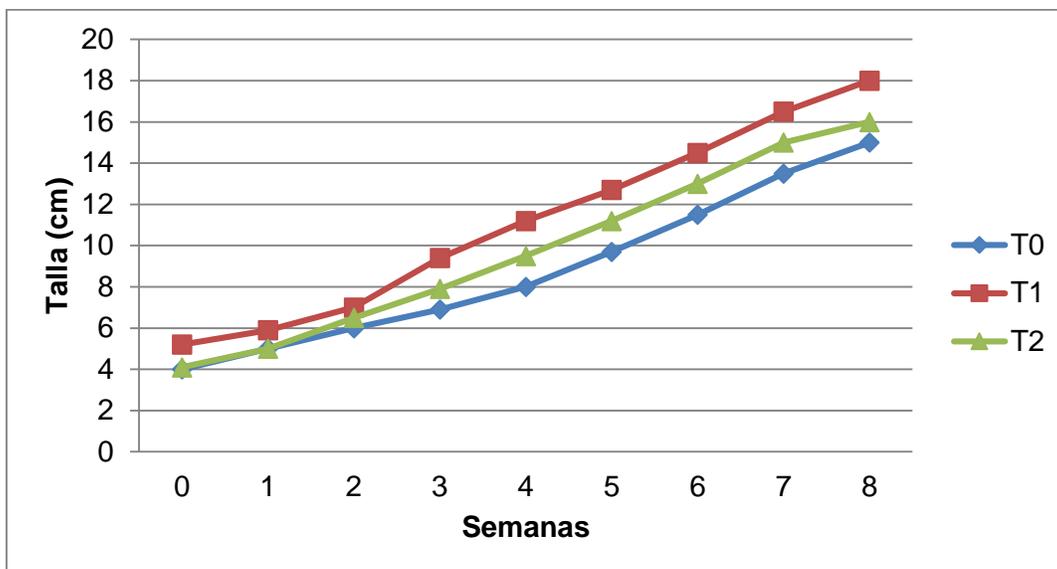
Tratamientos	Cms	Probabilidad
T0 o Testigo concentrado	15.0 <sup>a</sup>	0.4777*
T1 concentrado + 1% probiótico	18.0 <sup>a</sup>	
T2 concentrado + 2% probiótico	16.0 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup>: letras iguales en una misma columna, indican igualdad entre las tallas.

\*datos con probabilidad > 0.05 no presentan diferencia significativa.

Estos datos no concuerdan con los obtenidos por Guerra Bone, LG. 2011, quien evaluó el efecto de la adición de un probiótico al 1% (*Bacillus subtilis*) en la alimentación de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), durante la fase juvenil, el estudio genero como resultado una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) dado que el tratamiento experimental logro una talla de 20.73 centímetros y una talla para el tratamiento testigo de 20.13 centímetros. Probablemente una mayor variabilidad dentro de los tratamientos no haya permitido detectar las diferencias que se pueden apreciar entre las medias de los tratamientos que parecen favorecer al uso de probioticos.

La figura 4, representa la talla que los alevines adquirirían en cada semana de estudio, el tratamiento 1 mostro mejor desempeño que los otros tratamientos, pero a nivel estadístico esta diferencia es no significativa.



**Figura 4.** Talla de los alevines durante las ocho semanas de estudio.

### 4.3 Factor de conversión alimenticia

El análisis de varianza, para la variable conversión alimenticia precisa diferencia estadística para los tratamientos en estudio ( $p < 0.05$ ); por lo que se puede decir que los tratamientos en estudio producen diferencias en la conversión alimenticia, es decir que al menos uno de los tratamientos produce los mejores efectos (Cuadro A-6). En los resultados de la prueba estadística de contrastes ortogonales, el  $C_1$  es significativo es decir que el T1 y T2 producen los mejores efectos en la conversión alimenticia respecto al T0 (Cuadro A-7).

En base a lo anterior, el tratamiento con mejor conversión alimenticia es el T1 como se observa en el cuadro 6, se representa la conversión alimenticia durante todo el ensayo, observando que la mejor conversión alimenticia la obtuvo el T1, correspondiente al tratamiento experimental alcanzando una conversión alimenticia de 0.95, el T2 alcanzó una conversión alimenticia de 1; mientras que el T0 o testigo alcanzó una conversión alimenticia de 1.05.

**Cuadro 6.** Conversión alimenticia de los alevines durante el experimento

Tratamientos		Probabilidad
T0 o Testigo concentrado	1.05 <sup>c</sup>	0.0001*
T1 concentrado + 1% probiótico	0.95 <sup>a</sup>	
T2 concentrado + 2% probiótico	1 <sup>b</sup>	

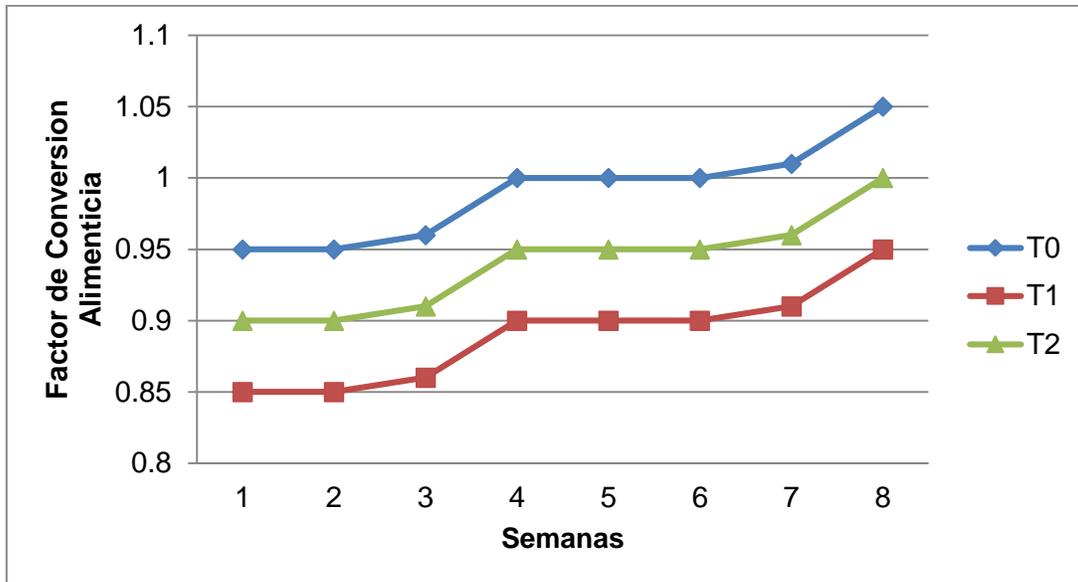
<sup>a b c</sup>: distintas letras en una misma columna, indica diferencia entre las CA.

\*datos con probabilidad < 0.05 presentan diferencia significativa.

Según Nicovita, SV. 2008, El F.C.A. se encuentra en el rango establecido, para el tratamiento 1 (1% probiótico), tomando como referencia de la semana uno a la semana ocho. Indicando que la tilapia en esta etapa de vida necesita 0.95 g de alimento para producir un gramo de peso, siendo más eficiente el alimento con el uso del probiótico.

Guevara *et al.*, 2003 nos indican que en un estudio realizado en Colombia, en el que adicionaron probióticos a base de bacterias como *Bacillus*, *Lactobacillus* al alimento extrudizado para tilapia roja en la fase de levante, 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 la variable 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. Esto se asemeja a lo obtenido en la investigación donde el T1 con 1% de probiótico (10 g/kg) donde se obtuvieron las mejores conversiones alimenticias.

La figura 5, representa la conversión alimenticia de todos los alevines en cada tratamiento por semana, resultando con una línea de tendencia marcada.



**Figura 5.** Conversión alimenticia de los alevines durante las ocho semanas de estudio.

#### 4.4 Índice de mortalidad

Como se aprecia en el cuadro 7, el análisis de varianza para la variable índice de mortalidad no precisó diferencia estadística ( $p > 0.05$ ) para los tratamientos en estudio, por lo tanto los tratamientos no producen diferencias en el índice de mortalidad (Cuadro A-8).

**Cuadro 7.** Índice de mortalidad de los alevines durante el experimento

Tratamientos	%	Probabilidad
T0 o Testigo concentrado	8.33 <sup>a</sup>	0.6581*
T1 concentrado + 1% probiótico	6.66 <sup>a</sup>	
T2 concentrado + 2% probiótico	7.22 <sup>a</sup>	

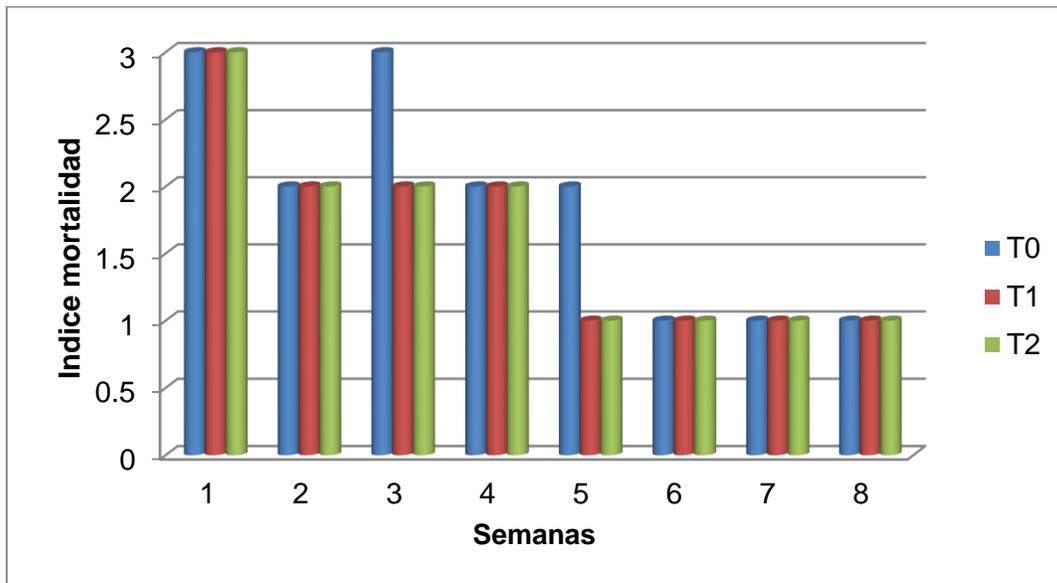
<sup>a</sup>: letras iguales en una misma columna, indican igualdad entre la mortalidad.

\*datos con probabilidad  $> 0.05$  no presentan diferencia significativa.

El índice de mortalidad se encuentra dentro de los rangos aceptables para cultivo de tilapias en el mundo, tal como lo señala Baltazar y Palomino. 2004 quienes reportan un porcentaje promedio de 10% de mortalidad natural y 10% entre aclimatación y pre-cría.

Según Popman y Green. 1990 una sobrevivencia del 70 - 80% es aceptable en la fase de pre-engorde; en la investigación existió un porcentaje de mortalidad que oscilo el 10%, diciendo que se encontraban en buenas condiciones de sanidad y calidad de agua.

La figura 6, representa el índice de mortalidad de todos los alevines durante todo el experimento, encontrándose en los límites establecidos.



**Figura 6.** Índice de mortalidad de los alevines durante las ocho semanas de estudio.

#### 4.5 Parámetros físico-químicos del medio acuático

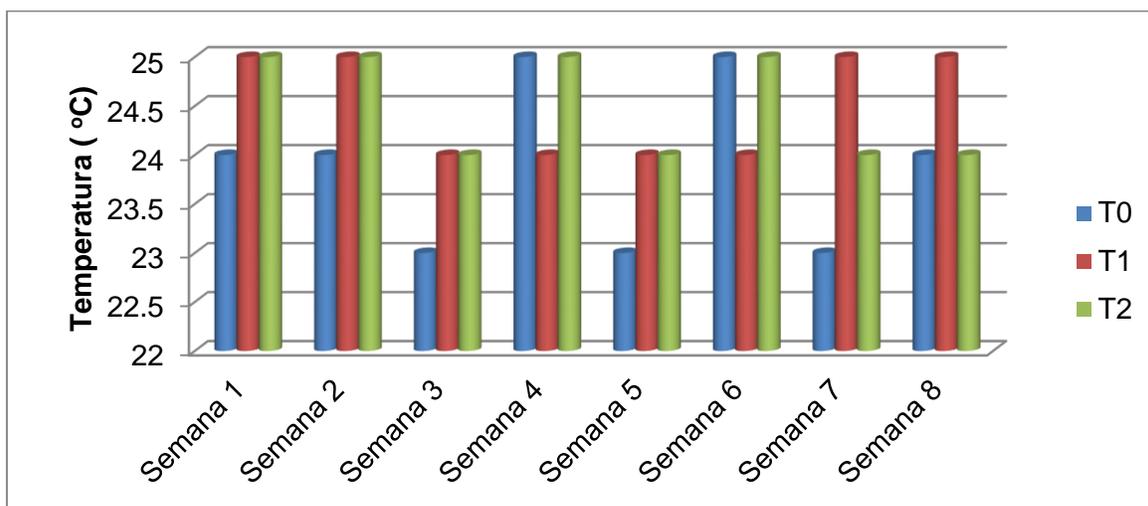
Es importante resaltar las principales propiedades físico-químicas monitoreadas en el desarrollo de la investigación, ya que se mantuvieron en rangos aceptables para la tilapia en el medio acuático. Estos parámetros se presentan como apoyo técnico a través de una estadística descriptiva del comportamiento que se obtuvo durante todo el ensayo.

##### 4.5.1 Temperatura

En la figura 7, se muestran los valores de temperatura del agua de los tratamientos en estudio, en la que según Saavedra. 2006 los rangos óptimos de temperatura para el cultivo de tilapias fluctúan entre 28-32 °C. Los cambios de temperatura afectan directamente la tasa metabólica, mientras mayor sea la temperatura, mayor tasa metabólica y, por ende, mayor consumo de oxígeno. La reproducción se da con éxito a

temperaturas entre 26-33 °C. Los límites superiores de tolerancia oscilan entre 37-42 °C. De acuerdo a lo dicho por el autor citado anteriormente, los datos obtenidos en el experimento muestran que la temperatura del agua oscilo entre una media de 24.30 °C no encontrándose en los intervalos óptimos establecidos para el crecimiento y reproducción.

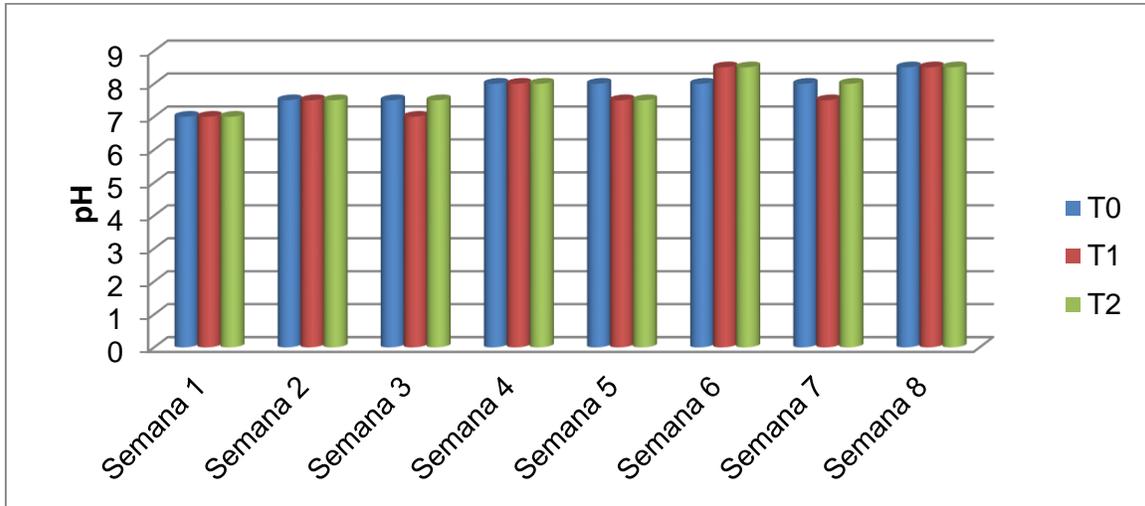
Según Losordo. 1997, citado por Pizarro. 2002, 28 °C es el rango de temperatura óptima para el crecimiento de las tilapias; no encontrándose en el rango establecido durante el desarrollo del experimento.



**Figura 7.** Temperatura del agua de cada tratamiento durante las ocho semanas de estudio.

#### 4.5.2 pH

En la figura 8, se muestran los valores de pH de las aguas de los tratamientos en estudio, en la que Según NICOVITA. 2002, el rango óptimo está entre 6.5 a 9.0. Valores por encima o por debajo, causan cambios de comportamiento en los peces como letargia, inapetencia, retardan el crecimiento y retrasan la reproducción. De acuerdo a lo dicho por NICOVITA. 2002 el pH de las aguas de los tratamientos en estudio se encontraron en los valores óptimos de crecimiento de las tilapias *Oreochromis niloticus*.

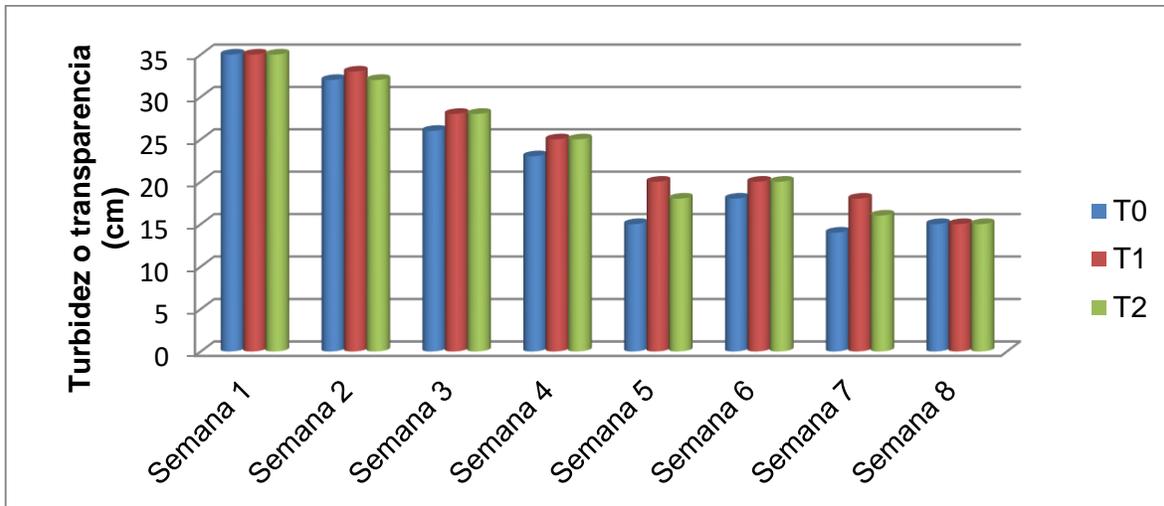


**Figura 8.** pH del agua de cada tratamiento durante las ocho semanas de estudio.

#### 4.5.3 Turbidez

En la figura 9, se muestran los valores de turbidez en las aguas de los tratamientos en estudio, Bocek, A. 2007 la turbidez o transparencia debe medirse por lo menos 3 veces a la semana, siempre a las 11:00 am y siempre que el día esté soleado. La lectura ideal estará entre los 25 a 35 cm de visibilidad siempre que la turbidez sea ocasionada por algas verdes no filamentosas y que no sean algas verde-azules ni lodo. En otras palabras, el agua debe ser de color verde esmeralda ocasionada por algas clorofíceas principalmente. Una medición muy alta como 50 ó 60 cm indicará un agua transparente muy pobre (existe una excepción en los estanques de alto recambio) y una lectura inferior a 20 cm indicará que existe demasiada concentración de algas en el agua que puede ser peligroso pues las algas consumen oxígeno durante la noche y pueden llevar los niveles de oxígeno a 0 ppm matando los peces.

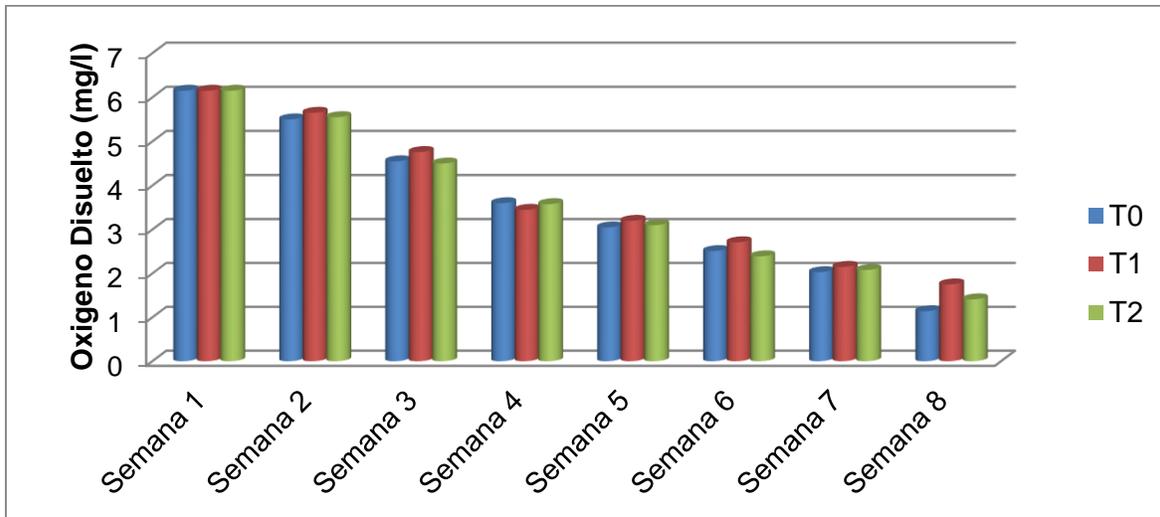
De acuerdo a lo dicho por Bocek, A. 2007, los valores de turbidez del agua de los tratamientos en estudio se encontraron en niveles óptimos en la semana uno, dos, tres y cuatro los cuales se presentan en la figura 9; mientras que en la semana cinco, seis, siete y ocho los tratamientos presentaron valores menores de 20 centímetros.



**Figura 9.** Turbidez del agua de cada tratamiento durante las ocho semanas de estudio.

#### 4.5.4 Oxígeno Disuelto

En la figura 10, se muestran los valores de oxígeno disuelto en las aguas de los tratamientos en estudio, Según Nicovita. 2000, la tilapia es capaz de sobrevivir a niveles bajos de oxígeno disuelto (1,0 mg/L), pero esto provoca efecto de estrés, reduciendo el consumo de alimento y afectando el crecimiento de los peces. Para mantener un cultivo exitoso de tilapia, los valores de oxígeno disuelto deberían estar por encima de los 3 a 8 mg/L; de acuerdo a lo dicho por Nicovita. 2000, los valores obtenidos en la investigación se encontraron en los valores óptimos de oxígeno disuelto en la semana uno, dos, tres y cuatro los cuales se presentan en la figura 10; mientras que en la semana cinco, seis, siete y ocho los tratamientos presentaron valores menores de 3.0 mg/L.



**Figura 10.** Oxígeno disuelto del agua de cada tratamiento durante las ocho semanas de estudio.

## 4.6 Análisis económico

### 4.6.1 Datos del experimento

Los costos que varían para este caso, es el precio del concentrado de cada tratamiento, y del probiótico, ya que los demás precios son los mismos en cada tratamiento (Cuadro A-9).

### 4.6.2 Presupuesto parcial

Se realizó un ajuste del 20% de los rendimientos a cada tratamiento, multiplicando los rendimientos por 0.20 como se observa en el cuadro 8, y estimando los beneficios brutos de campo en base al precio de venta de la tilapia en el mercado. Los beneficios netos se obtuvieron por la diferencia de los beneficios brutos de campo y los costos que varían.

**Cuadro 8.** Presupuesto parcial

	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Rendimiento # de tilapias	165	168	167
Rendimiento ajustado (20%) # de tilapias	132	134.40	133.6
<b>BBC (\$)</b>	<b>66</b>	<b>67.20</b>	<b>66.8</b>
Costo de concentrado (\$)	7.50	13.80	9.25
Probiótico (\$)	0.00	0.33	0.44
<b>CV (\$)</b>	<b>7.50</b>	<b>14.13</b>	<b>9.69</b>
<b>BN Parcial (\$)</b>	<b>58.50</b>	<b>53.07</b>	<b>57.11</b>

#### 4.6.3 Análisis de dominancia

Para el análisis de dominancia los tratamientos se ordenaron de menor a mayor costo que varían, colocando a la par su beneficio neto. El tratamiento dominado es el T1, por tener los beneficios netos más bajos de \$53.07 (Cuadro A-10).

#### 4.6.4 Tasa de retorno marginal

No existe tasa de retorno marginal para los tratamientos en estudio, ya que los costos que varían, especialmente el alimento concentrado se incrementa considerablemente para el tratamiento 1 y moderadamente para el tratamiento 2, con relación al tratamiento testigo. Por lo tanto, no se espera recuperar lo invertido de los tratamientos, aun comercializándolo. A la vez, hay que considerar que la tilapia no ha alcanzado la talla de mercado, quedándose en fase juvenil (pre-engorde), no apto para sacar a venta y consumo.

## 5. CONCLUSIONES

1. Al utilizar probiótico al 1% en la alimentación de los alevines incrementó significativamente el peso y la ganancia semanal; mientras la inclusión al 2% de probiótico produjo aumentos que no fueron estadísticamente significativos.
2. Al emplear probiótico a base de *Bacillus subtilis* en la alimentación de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), el factor de conversión alimenticia se volvió eficiente para los tratamientos experimentales; el T1 con 0.95 y el T2 con 1, siendo más eficiente el alimento combinándolo con el probiótico.
3. Estadísticamente no se observó diferencia significativa entre el tratamiento experimental (adición de probiótico *Bacillus subtilis*) y el tratamiento testigo para las variables talla e índice de mortalidad.

## 6. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar probiótico al 1% a base de *Bacillus subtilis* en la dieta de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) dado los resultados productivos obtenidos durante la investigación.
2. Se recomienda realizar estudios de comparación donde el probiótico a base de *Bacillus subtilis*, se aplique en el alimento versus medio acuático para determinar los beneficios por las diferentes vías.
3. Evaluar el efecto aditivo del probiótico a base de *Bacillus subtilis* durante todas las fases de desarrollo de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), para poder completar información con futuros trabajos de investigación.

## 7. BIBLIOGRAFIA

**Amstutz, HE; Anderson, DP; Jeffcott, LB; Loew, FM; Wolf, AM; Armour, SJ, 2000.** EL MANUAL MERCK DE VETERINARIA Quinta Edición en Español, Eds. SE Aiello y A Mays, 5 ed., Barcelona, ES, EDITORIAL OCEANO, 15 p.

**Anon, 1998.** CHR. Hansem. Byo System. The World\_s microbial experts. Consultado el 17 de julio del 2017. <http://www.chrhansen.com/infocarne/probioticosennutriciónanimal/>

**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. Consultado el 17 de julio del 2017: <http://www.civa2002.org>

**Baltazar Guerrero, PM.; Palomino Ramos, AR. 2004.** Manual de cultivo de tilapia: programa de transferencia de tecnología en acuicultura para pescadores artesanales y comunidades campesinas. (en línea). Ed. ex. PE. FONDEPES. Consultado 03 julio 2016. Disponible en: [http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manual\\_tilapia.pdf](http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manual_tilapia.pdf)

**Beamish, F.W.H., Sitja-Bobadilla, A., Jebbink, J.A. y P.T.K. Woo. 1996.** Bioenergetic cost of cryptobiosis in fish: rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* infected with *Cryptobia salmositica* and with an attenuated live vaccine. Diseases of Aquatic Organisms. El Salvador. 25pp. Disponible en: [www.umar.mx/tesis\\_PA/tesis.../MORENO-ENRIQUEZ-BIO-MAR.pdf](http://www.umar.mx/tesis_PA/tesis.../MORENO-ENRIQUEZ-BIO-MAR.pdf)

**Beltran T, CS. 2012.** Plan estratégico para el desarrollo de la acuicultura comercial en la republica de El Salvador. (en línea). San salvador, ES. Consultado 06 Febrero 2015. Disponible en: <http://www.cordes.org.sv/documentos%20para%20web%20Cordes/El%20Salvador/gobier/plan%20Estrategico%20MAG..pdf>

**Barton, B.A. y G.K. Iwama. 1991.** Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Reviews of Fish Diseases. Alabama. 26pp. Disponible en: [www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101009/100915.pdf](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101009/100915.pdf)

**Bocek, A. 2007.** Introducción al cultivo de la tilapia (en línea). International Center for Aquaculture Swingle Hall Auburn University, Alabama, USA. (en línea). Consultado 24 julio 2017. Disponible en: <http://aq.arizona.edu/azaqua/AquacultureTIES/publications/Spanish%20WHAP/TIL1%20Intro%20Tilapia.pdf>

**Cedeño, Ricardo. 2007.** Probióticos y sus aplicaciones en el cultivo de camarón (en línea). Consultado 22 junio 2017. Disponible en <http://www.cenaim.espol.edu.ec/descarga/probioticos.pdf>

**Chou, Y. 1972.** Análisis estadístico. México nueva editorial interamericana S.A. de C.V.

**Clark, T.D. y R.S. Seymour. 2006.** Cardio-respiratory physiology y and swimming energetics of a high-energy-demand teleost, the yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). Journal of Experimental Biology . New York. 951pp. Disponible en: [www.digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_5172\\_Prymaczok.pdf](http://www.digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_5172_Prymaczok.pdf).

**Escobar Briones, L. 2006.** Avances sobre la ecología microbiana del tracto digestivo de la tilapia y sus potenciales implicaciones (en línea). Consultado 11 Febrero 2015. Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10\\_1228.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1228.pdf)

**FAO. 2004.** Estado de la pesca mundial y acuicultura 2004. (ROMA-FAO).

**Fitzsimmons, K. 2000.** Tilapia aquaculture in Mexico. Pp. 171-183 in B.A. Costa Pierce & J.E. Rakocy (Eds). Tilapia aquaculture in the Americas, Vol. 2. The world Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States (en línea). Consultado 13 Febrero 2015. Disponible en:

[http://www.extension.org/mediawiki/files/6/63/Tilapia\\_Production\\_systems\\_in\\_the\\_Americas\\_Technological\\_Ad.pdf](http://www.extension.org/mediawiki/files/6/63/Tilapia_Production_systems_in_the_Americas_Technological_Ad.pdf)

**Gatesoupe, F. J. 1994.** Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* against pathogenic *Vibrio*. *Aquat. Living. Resour.*, 7: 277-282(en línea). Consultado 14 Febrero 2015 disponible en: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00065/17672/15200.pdf>

**Garriques, D., Y G. Arévalo. 1995.** An evaluation of the production and use of a live bacterial insólata to manipulate the microbial flora in the commercial productions of *Penaeus vannamei* postlarve in Ecuador In: Browdy, C.L., Hopkins, J.S. (ed)., *Swimming Through Troubled Water. Preceedings of the special sesión on shrimp farming, Aquaculture '95.* World Aquaculture Society, Baton Rouge, 53-59 p.

**Günther, J.; Montealegre, R.J. 2004.** Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laboratorio. (en línea). Consultado 17 Febrero 2015. Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442004000400015](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442004000400015)

**Günther, J.; Jiménez, R., 2004.** Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laboratorio; *Rev.Biol.Trop. (Int.J.Trop. Biol.*ISSN-0034-7744) vol. 52(4):937943, Consultado el 18 de julio del 2017 en [www.tropiweb.com](http://www.tropiweb.com)

**Guerra Bone, L.G. 2011.** Efecto de la adición de un probiótico (*bacillus subtilis*) en la alimentación de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), durante la fase juvenil, en la Aldea Madre Vieja, Taxisco, Santa Rosa, Guatemala. Tesis Lic. Guatemala, GT. Universidad de San Carlos de Guatemala. 44 p (en línea). Consultado el 16 Agosto 2016. Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10\\_1228.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1228.pdf)

**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 (*Oreochromis sp.*), Universidad Nacional de Colombia. 1-5 p.

**Holzapfel, W. H. P., P. Haberer, J. Snel, U. Schillinger y J. H. J. Huisin't Veld. 1998.** Over view of gut flora and probiotics. Int. J. Food Microbiol. 41 (2): 85-101.

**INP (Instituto Nacional de Pesca). 2004.** Perfil Producto Tilapia. Consultado 22 de julio de 2017. Disponible [http://www.ecuadorexporta.org/productos\\_down/perfil\\_producto\\_tilapia568.pdf#search=%22utilizacion%20de%20hormonas%20para%20la%20reversion%20de%20tilapia%20roja%22pdf%22%22](http://www.ecuadorexporta.org/productos_down/perfil_producto_tilapia568.pdf#search=%22utilizacion%20de%20hormonas%20para%20la%20reversion%20de%20tilapia%20roja%22pdf%22%22).

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

**Kőrösi Molnar, SR et. al. sf.** Influence of Bacillus subtilis on broiler performance (en línea). Consultado 21 de junio 2017. Disponible en: <http://www.animalscience.com/uploads/additionalFiles/WPSABalatonfured/286288Karosi.pdf>

**Lara Flores, M.; Escobar Briones, L.; Olvera Novoa, MA., 2002.** Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). (en línea). Mérida Yucatán, MX. Consultado 20 Agosto 2016. Disponible en: [http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion\\_acuicola/VI/archivos/A22.pdf](http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VI/archivos/A22.pdf)

**Lorenzo Manzanares, JL. 2011.** Efecto de tres métodos de cocción sobre el contenido nutricional de la mojarra tilapia (*Oreochromis sp.*). Tesis Ing. En alimentos. San Juan Bautista Tuxtepec Oaxaca, MX. UNPA. 87p.

**Lozano, D., 2001.** Manual de Piscicultura de la región amazónica ecuatoriana- Edición, Imprenta Mossaico, Quito- Ecuador. 1- 120 p.

**Llanes, J.; Toledo, J.; Fernández, I.; Lazo de la Vega, JM. 2006.** Nutrición y alimentación de tilapias. Asociación Cubana de Producción Animal (ACPA). 2006(4). No. 51-54 (en línea). Consultado 23 Febrero 2015. Disponible en: <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/viewFile/802/861>

**MAG. 2012.** Caracterización de la cadena productiva de acuicultura (Tilapia); Plan de agricultura familiar (PAF). (en línea). Santa Tecla, ES. Consultado 25 Febrero 2015. Disponible en: [http://www.iica.int/Esp/regiones/central/salvador/Documents/Documentos%20PAF/caracterizacion\\_acuicola\\_tilapia.pdf](http://www.iica.int/Esp/regiones/central/salvador/Documents/Documentos%20PAF/caracterizacion_acuicola_tilapia.pdf)

**Mariño, M. 2006.** Generalidades de la tilapia, Internacional Revista N° 10, Consultado 22 de julio de 2017. Disponible: <http://www.ipacuicultura.com/noticia.php?indnot=526>.

**Meyer, D. E.; Mejia, S. 1993.** Utilización de cuatro fuentes de nutrientes en el cultivo de la tilapia (*Oreochromis niloticus*). Actas del Simposio de Investigación Acuícola en Latinoamérica. Pradepesca Univ. Nac. De Heredia Costa Rica. Consultado 05 Septiembre 2016. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/7179/1/50107585.pdf>

**Moriarty, D. 1999.** Disease Control in Shrimp Aquaculture with Probiotic Bacteria. En: Proceedings of the 8th International Symposium in Microbial Ecology. Bell, C., Brylinsky, M. and Johnson, G., (Eds.), Atlantic Canada Society for Microbial Ecology. Halifax, Canada.

**Nicovita. 2000.** Manual de Crianza Tilapia. Alimentos Balanceados. Lima, Perú. 49pp. Disponible en: <http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Tilapia/Manual%20de%20crianza%20de%20tilapia.pdf>

**NICOVITA, 2002.** Manual de Crianza de Tilapia. Consultado 14 de Octubre de 2006. Consultado 26 de julio de 2017. Disponible [http://www.nicovita.com.pe/pdf/esp/manuales/man\\_tilapia\\_01.pdf#search=%22tecnicas%20de%20alevinaje%20tilapia%20%22pdf%22%22](http://www.nicovita.com.pe/pdf/esp/manuales/man_tilapia_01.pdf#search=%22tecnicas%20de%20alevinaje%20tilapia%20%22pdf%22%22).

**Nicovita, SV. 2008.** Manual de crianza de tilapia: biología de la especie (en línea). Argentina, Nicovita. Consultado 20 marzo 2017. Disponible en <http://www.fiagro.org.sv/archivos/0/356.doc>

**Nutrivet, 2009.** (Nutrición Veterinaria, GT) información técnica del *bacillus subtilis* y del producto BIOTEC Guatemala, GT, Nutrivet (trifolio).

**Obregón, A.; Duván, A. 2005.** Reversión sexual de las tilapias roja (*Oreochromis sp.*). Una guía básica para el acuicultor. (En línea). Revista electrónica de veterinaria REDVET ISSN 1695:7504. Vol., nº12, Consultado 25 de julio de 2017. Disponible en <http://www.veterinaria.org/redvet/n121205.html>

**OSPESCA. 2009.** Indicadores macroeconómicos del sector pesquero y acuícola del Istmo Centroamericano. Período 2000-2007. FIINPESCA-OSPESCA/FAO/Suecia–GCP/PRLA/150/SWE, PAPCA-AECID/XUNTA DE GALICIA. 61-65 pp.

**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.

**Pizarro Aguilar C. 2002.** Efecto de Diferentes Niveles de Grasa en la Nutrición de la Tilapia (*Oreochromis niloticus*) en Jaulas Flotantes. Tesis (Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia). Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía Escuela de Zootecnia.

**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-EI-Cultivo-Integral-de-La-Tilapia#30-40p>.

**Popman, T. J. y B. W. Green. 1990.** Sex Rerversal of Tilapia in Eartherm Ponds International Center of Aquaculture, Auburn University, Alabama, USA. 15pp. Disponible en:

[www.sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/.../04CA2008PD054.pdf](http://www.sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/.../04CA2008PD054.pdf)

**Popma T. y Masser M, 1999.** Tilapia, Life History and Biology. Southern Regional Aquaculture Center.

**PRODUCE, (Viceministerio de Pesqueria Direccion Nacional de Acuicultura). 2004.** cultivo de tilapia. Consultado 24 de julio de 2017. Disponible [http://www.produce.gob.pe/mipe/dna/doc/ctilapia\\_1.pdf#search=%22utilizacion%20de%20hormonas%20para%20la%20reversion%20de%20tilapia%20roja%22pdf%22%22](http://www.produce.gob.pe/mipe/dna/doc/ctilapia_1.pdf#search=%22utilizacion%20de%20hormonas%20para%20la%20reversion%20de%20tilapia%20roja%22pdf%22%22).

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

**Prosser, C.L. 1986.** Adaptational biology: Molecules to organisms. John Wiley, New York. 67pp. Disponible en: [www.pecuariaslicely.blogspot.com/p/peces.html](http://www.pecuariaslicely.blogspot.com/p/peces.html)

**Pruginin, Y. 1998.** Cultivo de peces comerciales, Fish and Aguaculture Rescarch. Dor, Israel. Mexico. Limusa Noriega Editores.

**Quiñonez, 2008.** Efecto de bacterias acido lácticas y levaduras con potencial probiótico en el cultivo de las tilapias *Oreochromis niloticus* y *Oreochromis* sp. Guasave, Sinaloa-México, 3- 43 p.

**Re, A.D., Diaz, F., Sierra, E. y S. Gomez-Jimenez.(2004).** Oxygen consumption, ammonium and osmoregulatory capacity of *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) exposed to different combinations of temperature and salinity. Ciencias Marinas. Colombia. 453pp. Disponible en: [www.iamz.ciheam.org/espanol/cursos11-12/pub-12-repropeces-esp.htm](http://www.iamz.ciheam.org/espanol/cursos11-12/pub-12-repropeces-esp.htm)

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

**Rojas Contreras, CL et. al. 2008.** *Bacillus subtilis* como un probiótico funcionalizado para la liberación de interferon gamma (en línea) consultado 23 jun. 2017. Disponible en <http://www.smb.org.mx/XXVIICONGRESO/Text/AREA-11/CARTELES/11 A 14.pdf>

**Ruiz Gramajo, A. 2007.** Efecto de la adición de *Bacillus subtilis* en dietas de pollo de engorde, sobre parámetros productivos, en el área de Chimaltenango, Tesis, Lic. En Acuicultura, Guatemala, Guatemala, GT, FMVZ (Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia) 19p.

**Saavedra Martínez, MA. 2006.** Manejo de cultivo de tilapia. (en línea). Managua, NI. Consultado 28 Febrero 2015. Disponible en: [http://csptilapianayarit.org/informacion/Generalidades\\_del\\_cultivo\\_de\\_Tilapia.pdf](http://csptilapianayarit.org/informacion/Generalidades_del_cultivo_de_Tilapia.pdf)

**Sacred Mountain Management, Inc. 1997. Still benefiting Health-Savvy Individuals (en línea)** Consultado el día 22 junio 2017. Disponible en <http://www.upwardquest.com/bacillussubtilis.html>

**Santamaría. L. 2004.** Uso de aditivos en la alimentación avícola. (en línea). Consultado 28 Febrero 2015. Disponible en: ([www.naturalstandard.com](http://www.naturalstandard.com)).

**SAGPyA (Secretaría de agricultura, ganadería y pesca, AR) 2008.** Acerca del cultivo de tilapia nilótica y tilapia roja (en línea). Consultado el 17 julio 2017. Disponible en <http://www.sagpya.mecon.gov.ar/SAGPyA/pesca/acuicultura/01=Cultivo/01-Especies/Archivos/000008Tilapia/071201Acerca%20del%20Cultivo%20de%20Tilapia%20Roja%20o%20Del%20Nilo.pdf>

**SULLIVAN, D.J.O., 2001.** Screening of intestinal microflora for effective probiótico bacteria. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 49, 1751-1760 p.

**SRA (Secretaría de la Reforma Agraria, MX) 2009.** Manual del Participante Cultivo de Tilapias en Estanques Rústicos (en línea). Consultado 28 Febrero 2015. Disponible en: <http://www.sra.gob.mx/internet/informaciongeneral/programas/fondotierras/manuales/cultivo/tilapiaestanquesrusticos.pdf>

**Tovar Alamilla, HA. s.f.** Generalidades del Cultivo de la Tilapia. Consultado 24 de julio de 2017. Disponible <http://www.zoetecnocampo.com/>

**Tsang, SH. Quintanilla, M. 2008.** Manual sobre Reproducción y cultivo de tilapia. (en línea). San Salvador, ES. CENDEPESCA- MAG. Consultado 01 Marzo 2015. Disponible en: [http://www.mag.gob.sv/phocadownload/Apoyo\\_produccion/manual%20reproduccion%20y%20cultivo%20tilapia.pdf](http://www.mag.gob.sv/phocadownload/Apoyo_produccion/manual%20reproduccion%20y%20cultivo%20tilapia.pdf)

**Tsang, SH; Quintanilla, M; Aguilón, CG. 2010.** Manual de Reproducción y Cultivo de Tilapia. 2ª ed. San Salvador, ESA, Graficalor S.A. de C.V. 29 p.

**Vega Villasante FF, Cortés Lara, MC.; Zúñiga Medina, LM.; Ceballos, BJ.; Galindo-López, J.; Basto-Rosales, MER.; Nolasco Soria, H. 2010.** Cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) a pequeña escala alternativa alimentaria para familias rurales y periurbanas de México. (en línea). REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria 1695-7504. 11(03): 1-15. Consultado 01 Marzo 2015. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040410/041010.pdf>

**Verschuerer, L., Net. Rombaut, P. Zorruelos, Y W. Verstraete. 2000.** Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 64, 655-671 p.

**Villamil Díaz, L. y Martínez Silva, MA. 2009.** Probióticos como herramienta biotecnológica en el cultivo de camarón: reseña. (en línea). Santa Marta, CO. Consultado el 02 Marzo 2015. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/mar/v38n2/v38n2a09>

**Wang, Y.G., K.L. Lee, M. Najjah, M. Shariff & M.D. Hassan. 2000.** A new bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus 70 monodon* and its comparison with white spot syndrome (WSS) caused by virus. *Dis. Aquatic Organisms* 41:9-18p.

**Wallace, R. J. y C. J. Newbold. 1992.** Probiotics for ruminants. 317-353. En: Fuller, R. (Ed.). *Probiotics: the scientific basis*. Chapman and Hall, London (en línea). consultado 02 Marzo 2015. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00889646/document>

## 8. ANEXOS

**Cuadro A-1.** Cantidad de alimento concentrado y probiótico, proporcionado en la investigación por tratamiento.

<b>Tratamiento 0</b>						
<b>Semana</b>	<b>Cantidad Alimento g x Semana</b>	<b>Cantidad Alimento g x Día</b>	<b>Cantidad Alimento g x Ración</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Semana</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Día</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Ración</b>
<b>0</b>	403.2	57.60	19.20	--	--	--
<b>1</b>	680.4	97.20	32.40	--	--	--
<b>2</b>	680.4	97.20	32.40	--	--	--
<b>3</b>	743.4	106.20	35.40	--	--	--
<b>4</b>	796.32	113.76	37.92	--	--	--
<b>5</b>	992.25	141.75	47.25	--	--	--
<b>6</b>	1129	161.29	53.76	--	--	--
<b>7</b>	1379.7	197.10	65.70	--	--	--
<b>8</b>	1712.3	244.61	81.54	--	--	--
<b>TOTAL (Grs)</b>	<b>8,516.97</b>			--		
<b>TOTAL (Lbs)</b>	<b>18.76</b>					

<b>Tratamiento 1 (Probiótico 1%)</b>						
<b>Semana</b>	<b>Cantidad Alimento g x Semana</b>	<b>Cantidad Alimento g x Día</b>	<b>Cantidad Alimento g x Ración</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Semana</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Día</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Ración</b>
<b>0</b>	504	72.00	24.00	5.04	0.72	0.24
<b>1</b>	1360.8	194.40	64.80	13.61	1.94	0.65
<b>2</b>	1285.2	183.60	61.20	12.85	1.84	0.61
<b>3</b>	1417.5	202.50	67.50	14.18	2.03	0.68
<b>4</b>	1663.2	237.60	79.20	16.63	2.38	0.79
<b>5</b>	1922.8	274.69	91.56	19.23	2.75	0.92
<b>6</b>	2181.3	311.61	103.87	21.81	3.12	1.04
<b>7</b>	2457	351.00	117.00	24.57	3.51	1.17
<b>8</b>	2846.3	406.61	135.54	28.46	4.07	1.36
<b>TOTAL (Grs)</b>	<b>15,638.1</b>			<b>156.38 ml</b>		
<b>Total (Lbs)</b>	<b>34.45</b>					

<b>Tratamiento 2 (2% probiótico)</b>						
<b>Semana</b>	<b>Cantidad Alimento g x Semana</b>	<b>Cantidad Alimento g x Día</b>	<b>Cantidad Alimento g x Ración</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Semana</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Día</b>	<b>Cantidad Probiótico ml x Ración</b>
<b>0</b>	441	63.00	21.00	8.82	1.26	0.42
<b>1</b>	680.4	97.20	32.40	13.61	1.94	0.65
<b>2</b>	756	108.00	36.00	15.12	2.16	0.72
<b>3</b>	945	135.00	45.00	18.90	2.70	0.90
<b>4</b>	1109	158.43	52.81	22.18	3.17	1.06
<b>5</b>	1239	177.00	59.00	24.78	3.54	1.18
<b>6</b>	1492	213.14	71.05	29.84	4.26	1.42
<b>7</b>	1739	248.43	82.81	34.78	4.97	1.66
<b>8</b>	2079	297.00	99.00	41.58	5.94	1.98
<b>TOTAL (Grs)</b>	<b>10,480.4</b>			<b>209.61 ml</b>		
<b>TOTAL (Lbs)</b>	<b>23.08</b>					

**Cuadro A-2.** Resultados de medición parámetros físico-químicos del medio acuático.

SEMANAS	TRATAMIENTOS	TEMPERATURA (°C)	Ph	TURBIDEZ (cms)	O2-H2O (mg/L)
1	1	24	7	35	6.15
1	2	25	7	35	6.15
1	3	25	7	35	6.15
2	1	24	7.5	32	5.5
2	2	25	7.5	33	5.65
2	3	25	7.5	32	5.55
3	1	23	7.5	26	4.55
3	2	24	7	28	4.76
3	3	24	7.5	28	4.5
4	1	25	8	23	3.6
4	2	24	8	25	3.45
4	2	25	8	25	3.58
5	1	23	8	15	3.05
5	2	24	7.5	20	3.2
5	3	24	7.5	18	3.1
6	1	25	8	18	2.51
6	2	24	8.5	20	2.71
6	3	25	8.5	20	2.39
7	1	23	8	14	2.03
7	2	25	7.5	18	2.15
7	3	24	8	16	2.08
8	1	24	8.5	15	1.14
8	2	25	8.5	15	1.75
8	3	24	8.5	15	1.41
	<b>Medias</b>	<b>24.30</b>	<b>7.80</b>	<b>23.40</b>	<b>3.65</b>

**Cuadro A-3.** Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) para ganancia de peso

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	55.54	2	27.77	4.53	<b>0.0231</b>
Error	128.65	21	6.13		
Total	184.19	23			

**Cuadro A-4.** Contrastes de la variable ganancia de peso

Tratamiento	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste 1	-4.83	2.14	31.04	1	31.04	5.07	0.0352
Contraste 2	2.48	1.24	24.50	1	24.50	4.00	0.0586
<b>Total</b>			55.54	2	27.77	4.53	0.0231

**Cuadro A-5.** Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) para talla

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	22.98	2	11.49	0.76	<b>0.4777</b>
Error	361.79	24	15.07		
Total	384.77	26			

**Cuadro A-6.** Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) para factor de conversión alimenticia

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.04	2	0.02	16.67	<b>&lt;0.0001</b>
Error	0.03	21	1.2E-03		
Total	0.07	23			

**Cuadro A-7.** Contrastes de la variable factor de conversión alimenticia

Tratamiento	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste 1	0.15	0.03	0.03	1	0.03	25.00	0.0001
Contraste 2	-0.05	0.02	0.01	1	0.01	8.33	0.0088
<b>Total</b>			0.04	2	0.02	16.67	<0.0001

**Cuadro A-8.** Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) para índice de mortalidad

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	3.17	2	1.58	0.44	<b>0.6581</b>
Error	32.50	9	3.61		
Total	35.67	11			

**Cuadro A-9.** Datos de la investigación

<b>DESCRIPCION</b>	<b>CANTIDAD</b>	<b>UNIDAD</b>
Precio de campo del alevín	1	\$0.10
Precio de mercado de la tilapia	2 tilapias	\$1.6
Ajuste del rendimiento	20%	
Costo de T0	8.52 kg	\$7.50
Costo de T1	15.65 kg	\$13.80
Costo de T2	10.49 kg	\$9.25
Costo del agua	13.47m <sup>3</sup>	\$40.41
Costo del probiótico	1	\$8.00

**Cuadro A-10.** Análisis de dominancia

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>CV</b>	<b>BN</b>
<b>T0</b>	7.50	58.50
<b>T2</b>	9.69	57.11
<b>T1</b>	14.13	<b>53.07D</b>



**Figura A-1.** Ubicación geográfica del lugar donde se realizó la investigación.

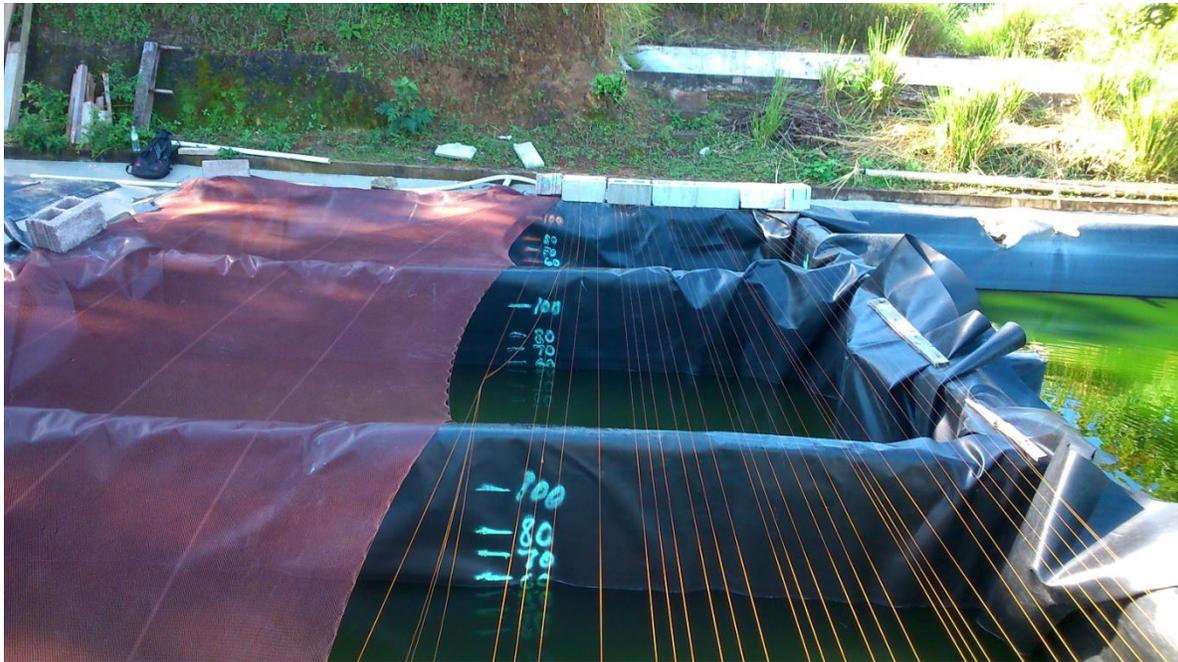
Fuente: Universidad de El Salvador, 2015.



**Figura A-2.** Estanque donde se llevó a cabo la investigación.



**Figura A-3.** Divisiones del estanque para cada tratamiento.



**Figura A-4.** Medidas de seguridad para evitar la entrada de depredadores.

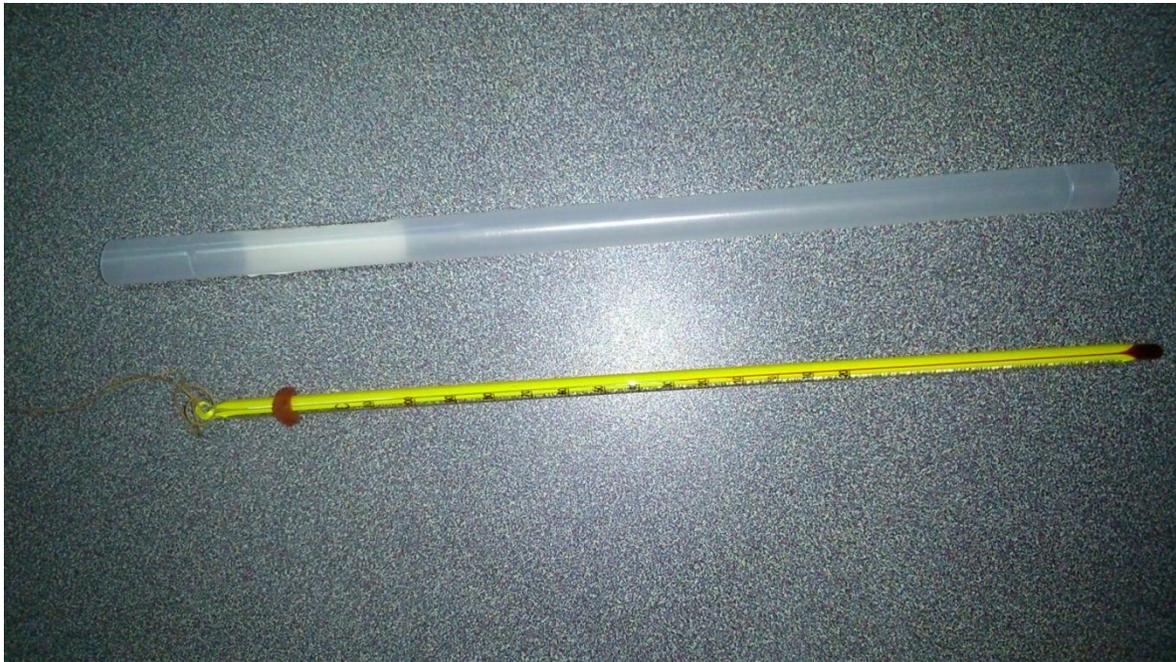


Figura A-5. Termómetro utilizado para medir la temperatura del agua.



Figura A-6. Tiras reactivas de pH.



**Figura A-7.** Disco secchi.



**Figura A-8.** Bascula de reloj.



**Figura A-9.** Bascula de plato.





**Figura A-10.** Preparación de los estanques, limpieza y desinfección.



Figura A-11. Manejo de estanques, llenado.





Figura A-12. Llegada de los alevines y colocación en los estanques.

<p style="text-align: center;"><b>T0</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Testigo concentrado</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>T1</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Concentrado + el 1% de probiótico</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>T2</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Concentrado + el 2% de probiótico</b></p>
<p style="text-align: center;">30 % Biomasa (54 alevines - muestra)</p>	<p style="text-align: center;">30 % Biomasa (54 alevines - muestra)</p>	<p style="text-align: center;">30 % Biomasa (54 alevines - muestra)</p>

Figura A-13. Diseño Espacial de los Tratamientos.



Figura A-14. Concentrado comercial utilizado en la investigación.





**Figura A-15.** Recambio y vaciado del agua de los estanques para toma de muestra.





**Figura A-16.** Pesaje de los alevines en balde plástico.





**Figura A-17.** Medición de la talla de los alevines.

**TRATAMIENTO TESTIGO (T0)**

<b>VARIABLES</b>	<b>PESO</b>	<b>TALLA</b>	<b>CONVERSION ALIMENTICIA</b>	<b>INDICES DE MORTALIDAD</b>	
<b>Fase 1</b>					
<b>Fase 2</b>					
<b>Fase 3</b>					
<b>Fase 4</b>					

**TRATAMIENTO AL 1% DE PROBIOTICO (T1)**

VARIABLES FASES	PESO	TALLA	CONVERSION ALIMENTICIA	INDICES DE MORTALIDAD	
Fase 1					
Fase 2					
Fase 3					
Fase 4					

**TRATAMIENTO AL 2% DE PROBIOTICO (T2)**

VARIABLES FASES	PESO	TALLA	CONVERSION ALIMENTICIA	INDICES DE MORTALIDAD	
Fase 1					
Fase 2					
Fase 3					
Fase 4					

**Figura A-18.** Hojas de registro de las variables.



**Figura A-19.** Probiótico utilizado en la investigación.



Figura A-20. Preparación de las raciones alimenticias con y sin probiótico.



**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA AGRICOLA**

**RESULTADO DE ANÁLISIS**

**Fecha:** Ciudad Universitaria, 20 de enero de 2016.  
**Usuario:** Br. José Walter Galdámez  
**Fecha de ingreso:** 12 / Noviembre / 2015  
**Tipo de Muestra:** Concentrado de tilapia  
**Número de Muestra:** 378  
**Análisis solicitado:** Bromatológico

<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>Concentrado de tilapia</b>
Humedad Total %	7.02
Proteína Cruda %	37.71
Cenizas %	7.94
Extracto Etereo %	4.63
Fibra Cruda	2.04
Carbohidratos %	56.94

Analista: Br. Mario Antonio Hernández Melgar

Atentamente,

**"HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA"**

**Ing. Agr. Oscar Mauricio Carrillo Carrillo**  
Jefe del Departamento de Química Agrícola

**Figura A-21.** Análisis bromatológico del concentrado.


**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL**  
**LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y DIAGNÓSTICO**

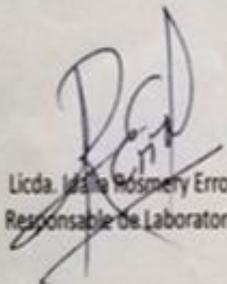

**REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

N° : 01A-2015

**SOLICITANTE** : José Walter Galdámez.  
**DEPENDENCIA** : Externo.  
**NOMBRE DE MUESTRA** : Muestra líquida color ámbar.  
**TIPO DE MUESTRA** : Biopreparado, biorremediador a base de *Bacillus subtilis*.  
 Aditivo para agregar a la alimentación de tilapia.  
**TOMA DE MUESTRA** : 18/nov/2015      **HORA** : ---  
**INICIO DE ANÁLISIS** : 18/nov/2015      **FIN DE ANÁLISIS** : 23/nov/2015

<b>ANÁLISIS SOLICITADO:</b>	: Identificación de bacterias.
-----------------------------	--------------------------------

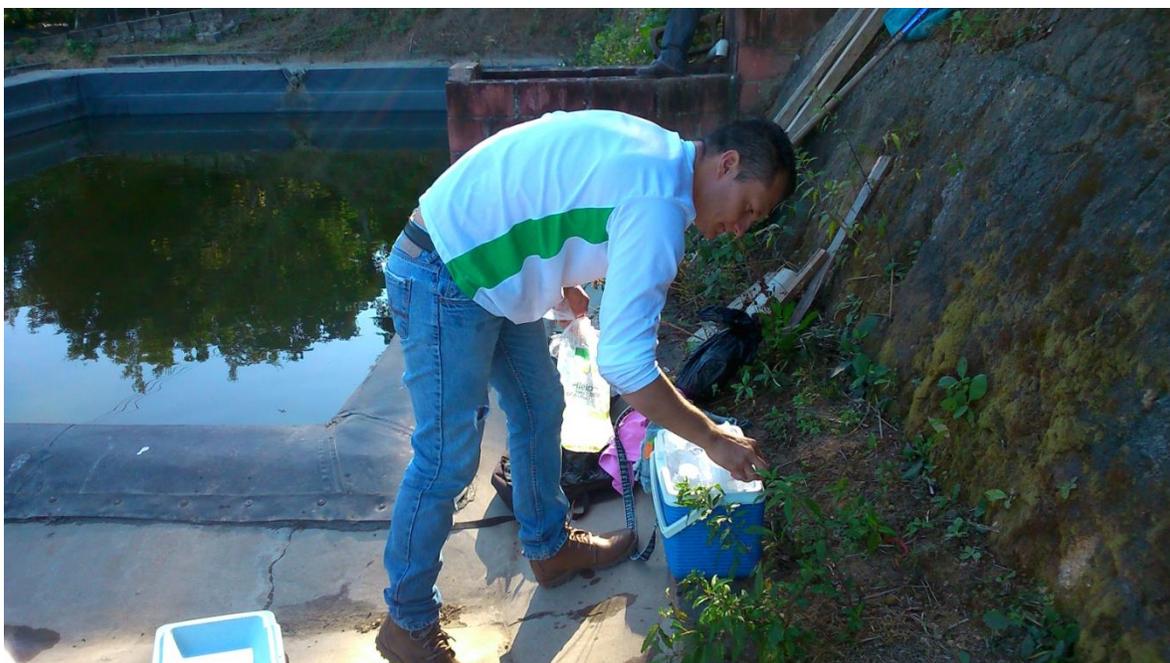
Análisis	Resultado	Observaciones
Cultivo y aislamiento de cepas bacterianas.	Bacterias en forma de bacilos largos Gram (+).	Se aisló <i>Bacillus subtilis</i> .
Coloración de Gram.	Bacterias en forma de bacilos cortos Gram (-).	

  
 Licda. Idalia Rosmery Erroa  
 Responsable de Laboratorio



  
 Lic. Rudy Anthony Ramos  
 Laboratorista

**Figura A-22.** Análisis microbiológico del probiótico.



**Figura A-23.** Toma de muestra de agua de los estanques, para medir el nivel de oxígeno.

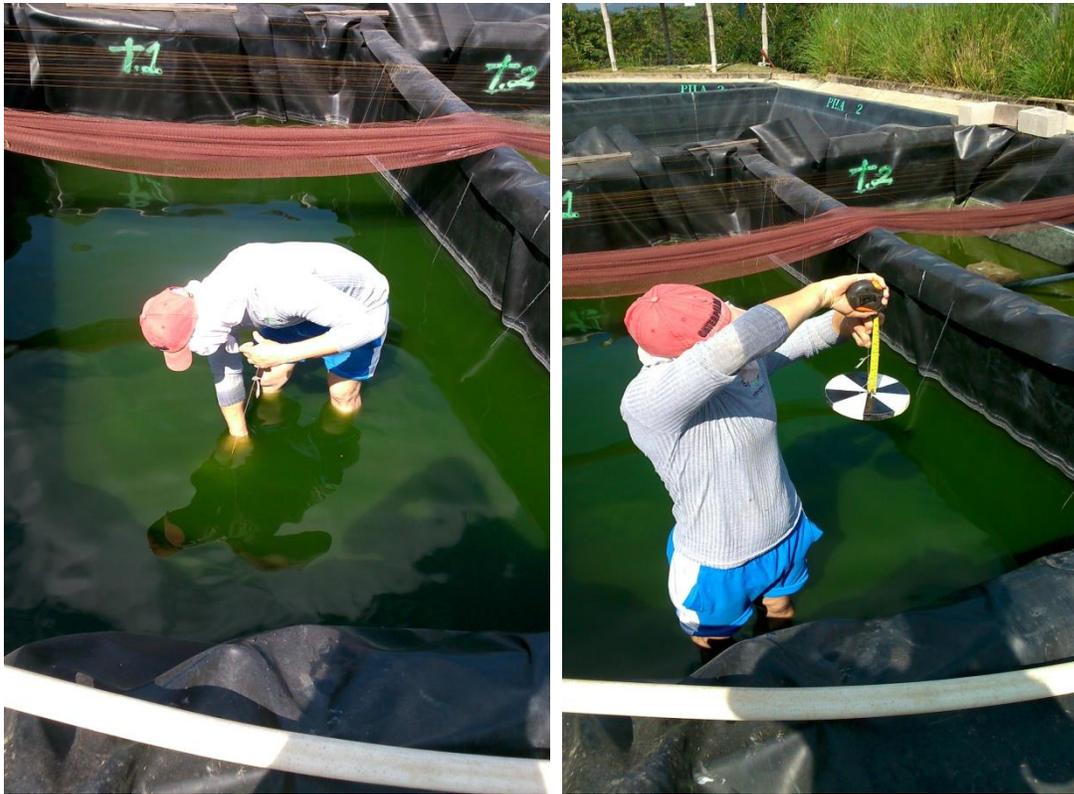


Figura A-24. Medición de la transparencia del agua de los estanques con disco secchi.



Figura A-25. Medición de la acidez del agua de los estanques con tiras reactivas de pH



**Figura A-26.** Medición de la temperatura del agua de los estanques.