



*Evaluación de la aplicabilidad de
probiótico en las fases larvarias de
Bocachico y Tilapia para optimizar
rendimiento productivo*



EVALUACIÓN DE LA APLICABILIDAD DE PROBIOTICO EN LAS FASES LARVARIAS DE BOCACHICO Y TILAPIA PARA OPTIMIZAR RENDIMIENTO PRODUCTIVO

INFORME FINAL

Ejecutado por: Autoridad nacional de acuicultura y pesca – AUNAP- y
Universidad de la Costa –CUC-.

Investigador principal: Sebastián Hernández Piñeres, MSc (c).

Lugar de ejecución: Estación piscícola Bajo Magdalena.

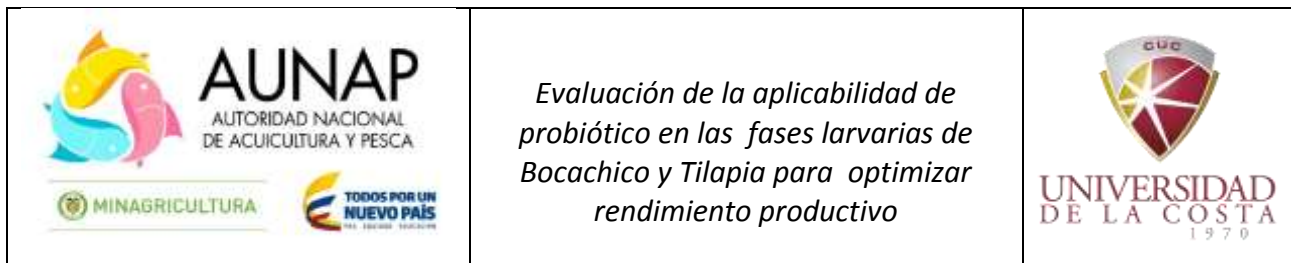


*Evaluación de la aplicabilidad de
probiótico en las fases larvarias de
Bocachico y Tilapia para optimizar
rendimiento productivo*



CONTENIDO

1. JUSTIFICACION.....	3
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
3. RESUMEN DE LOS RESULTADOS DEL CONOCIMIENTO	5
4. SINOPSIS DE LOS RESULTADOS	8
5. Cuadro de los resultados de conocimiento.....	9
6. METODO.....	11
7. RESULTADOS Y DISCUSIONES	15
a. Resultados ensayo Tilapia	15
b. Resultados ensayo Bocachico	17
c. Calidad fisicoquímica del agua.....	20
8. Bibliografía.....	22
ANEXOS	23

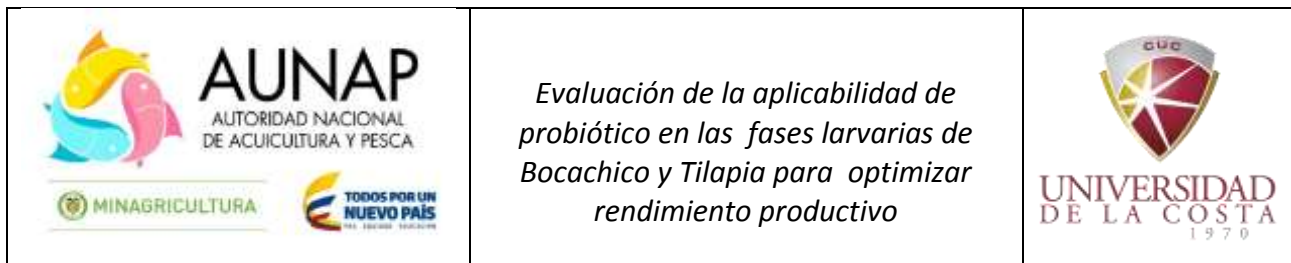


1. JUSTIFICACION

La implementación de nuevas estrategias y/o herramientas en acuicultura es de vital importancia para aumentar los rendimientos, especialmente en esas etapas críticas en el proceso de producción de peces, como lo es la larvicultura, siendo un caso puntual la del Bocachico donde se observa una alta tasa de mortalidad al inicio de la alimentación exógena. A diferencia, la tilapia soporta mayores condiciones de estrés y diversos tipos de alimento, sin embargo es necesario implementar técnicas que permitan incrementar el número de postlarvas obtenidas y acelerar el crecimiento en términos de biomasa.

En ambos casos los probióticos constituyen la herramienta más eficaz para utilizar en la cría de las larvas de estas dos especies, además disminuyen la vulnerabilidad a enfermedades fortaleciendo el sistema inmunológico de las larvas que más adelante garantizará el buen estado de salud de los animales en etapas de levante y engorde. En el caso particular del Bocachico va a permitir disminuir la vulnerabilidad a ciertos factores ambientales y adversos en el medio natural cuando las postlarvas obtenidas vayan a ser utilizadas con fines de repoblamiento.



Con esta investigación se pretendió sentar las bases para estandarizar un protocolo para la implementación de probióticos en la fase larvaria de Bocachico y tilapia, sirviendo de base para la replicación de esta investigación por parte de pequeños, medianos y grandes productores de estas dos especies aumentando los volúmenes de producción.



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Múltiples han sido las investigaciones realizadas sobre el uso de probióticos en animales acuáticos, confirmando el uso benéfico de microorganismos aplicados a la acuicultura adicionados en el alimento concentrado, además de las ventajas que producen estos sobre la calidad del agua de los sistemas empleados en el cultivo de peces, especialmente en los estanques (Balcazar *et al.*, 2006). La tilapia es la especie en la cual se ha realizado el mayor número de ensayos con probióticos, logrando aislar de manera precisa microorganismos del género *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, entre otros. Sin embargo los probióticos en tilapias nos han sido implementados en la fase larvaria si no en la fase de levante y engorde. Es fundamental empezar por la fase larvaria en todo proceso de producción de semilla de cualquier especie de pez puesto que en esa etapa es donde se relacionan las mayores mortalidades por el suministro del alimento y los probióticos a su vez contribuyen a mejorar la digestión enzimática asimilando directamente los nutrientes.

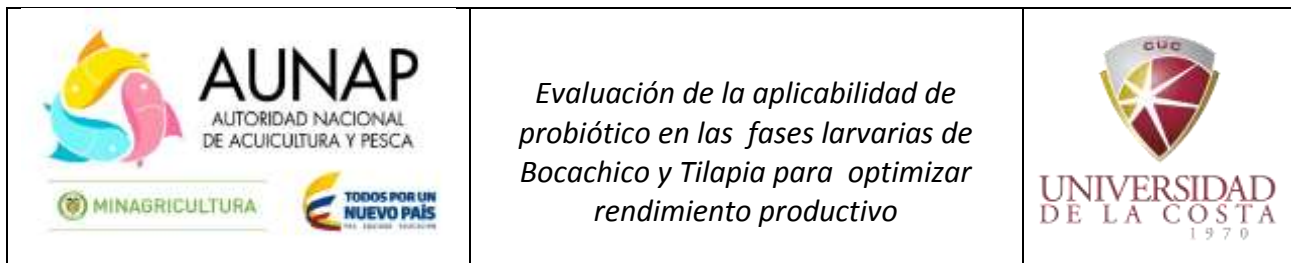
En Bocachico es limitado lo que se ha realizado con probióticos, sin embargo en esta especie deben ser de vital importancia por su hábito alimenticio detritívoro incorporando microorganismos que faciliten la degradación de la materia orgánica. En este sentido es necesario implementar probióticos en el cultivo de esta especie de tal manera que en la larvicultura se fijen esos microorganismos en el sistema digestivo de las larvas permitiéndoles un mejor desarrollo en las diversas etapas de cría.

	<p><i>Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo</i></p>	
---	--	---

3. RESUMEN DE LOS RESULTADOS DEL CONOCIMIENTO

El Bocachico y la Tilapia constituyen dos especies ícticas de gran importancia en la acuicultura. Por su parte el Bocachico es una especie endémica de las cuencas de los ríos Sinú, Atrato y Magdalena, sin embargo, por diversos factores tales como la pesca sin control, la contaminación, la deforestación de las zonas ribereñas y la construcción de hidroeléctricas han provocado disminución en sus volúmenes de capturas hasta el punto que las autoridades ambientales la consideran como una especie vulnerable. Es debido a lo anterior que cada vez es más importante el cultivo de esta especie en condiciones controladas por el hombre, supliendo las necesidades en el mercado de este recurso y de esta manera continuando con la tradición socio-cultural que tiene el mismo, además de garantizar la producción para la conservación de la especie mediante programas de repoblamiento. Por otro lado la Tilapia es la especie más importante en el sector acuicultor del país, representando los mayores volúmenes producidos por esta actividad, principalmente por la calidad de su carne y la composición nutricional, de la misma forma por ser la especie reina de la acuicultura ha sido la más ampliamente estudiada, teniendo su ciclo cerrado de producción, desde la larvicultura, el engorde y obtención de alevinos.

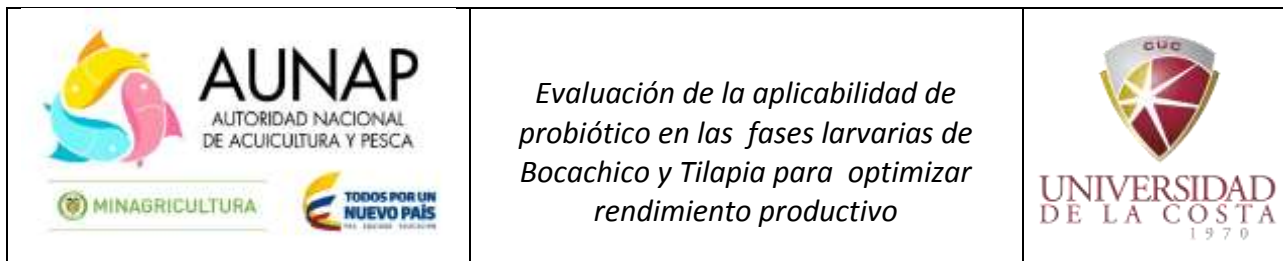
En este orden de ideas, la implementación de nuevas estrategias y/o herramientas en acuicultura es de vital importancia para aumentar los rendimientos, especialmente en esas etapas críticas en el proceso de producción de peces, como lo es la larvicultura, siendo un caso puntual la larvicultura de Bocachico donde se observa una alta tasa de mortalidad al inicio de la alimentación exógena. A diferencia, la Tilapia soporta mayores condiciones de estrés y diversos tipos de alimento, sin embargo es necesario implementar técnicas que permitan incrementar el número de postlarvas obtenidas y acelerar el crecimiento en términos de biomasa. En ambos casos



ya mencionados, los probióticos que son microorganismos benéficos que colonizan el tracto digestivo del animal y que sus ventajas se expresan en mejoras en la digestión, en la inmunidad y en la resistencia a las enfermedades, constituyen la herramienta más eficaz para utilizar en la etapa de larvicultura de estas dos especies, además disminuyen la vulnerabilidad a enfermedades fortaleciendo el sistema inmunológico de las larvas que más adelante garantizará el buen estado de salud de los animales en etapas de levante y engorde. En el caso particular del Bocachico va a permitir disminuir la vulnerabilidad a ciertos factores ambientales y adversos en el medio natural cuando las postlarvas obtenidas vayan a ser utilizadas con fines de repoblamiento. Además, que estos ya se consiguen de manera comercial en el mercado lo que facilita su adquisición y uso de forma masiva por parte de los acuicultores de la región, en el caso de esta investigación se utilizó el probiótico Ecobacter AQ, el cual se comercializa para ser usado en la biorremediación de aguas.



Para evaluar la aplicabilidad de este caldo comercial de probióticos en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia con la finalidad de optimizar rendimiento en términos de supervivencia y crecimiento. Se realizó un diseño experimental de cuatro tratamientos con tres replicas cada uno (4*3), que tuvo una duración de 15 días, utilizando larvas que acaban de absorber el saco vitelino, en donde el tratamiento #1 fue alimento concentrado con probiótico Ecobacter AQ al 10%, el tratamiento #2 fue alimento concentrado sin probiótico, el tratamiento #3 fue alimento vivo con probiótico Ecobacter AQ al 10% y el tratamiento #4 fue alimento vivo sin probiótico.

Para el caso de la Tilapia en donde se utilizaron para los bioensayos larvas de 0,010 gramos y 8 mm en promedio, encontrando que efectivamente hubieron diferencias significativas entre los tratamientos y los valores más favorables en cuanto al peso fueron para el tratamiento de *alimento concentrado + probiótico* con un valor promedio de 0.056 gramos/larva y de 14,76 mm/larva. En cuanto





al Bocachico en donde se utilizaron para los bioensayos larvas de 0,009 gramos y 5.8 mm en promedio, se registró que efectivamente hubieron diferencias significativas entre los tratamientos y los valores más favorables en cuanto al peso fueron para el tratamiento de *alimento vivo + probiótico* con un valor promedio de 0,11 gramos/larva; y de 18.2 mm/larva.

De este modo se evidencio como es el efecto de adicionar probióticos a la dieta en la larvicultura de estas dos especies, demostrando resultados favorables y promisorios para el uso de esta técnica en los procesos productivos de la Región Caribe.

	<p><i>Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo</i></p>	
---	--	---



4. SINOPSIS DE LOS RESULTADOS

En todo proceso de producción de peces el cuello de botella lo constituye la alimentación en las fases larvarias, porque por no ser la idónea se expresa en un número elevado de la mortalidad, específicamente en el cambio entre la reabsorción del saco vitelino y la primera alimentación exógena. En este tema se han venido desarrollando investigaciones que permitan aumentar la rentabilidad en términos de supervivencia y crecimiento en la fase larvaria de las diferentes especies de peces. Dentro de estas alternativas se encuentran los probióticos que son microorganismos benéficos que colonizan el tracto digestivo del animal y que sus ventajas se expresan en mejoras en la digestión, en la inmunidad y en la resistencia a las enfermedades. Existen actualmente probióticos aislados del tracto digestivo de los animales y que se consiguen comercialmente. El objetivo de este proyecto fue evaluar el efecto de los probióticos en el crecimiento y engorde de la Tilapia y Bocachico, la investigación se llevó a cabo en la Estación Piscícola Bajo Magdalena de la AUNAP ubicada en el Municipio de Repelón, encontrando que efectivamente los probióticos tienen un efecto positivo en el crecimiento y engorde de ambas especies, no obstante es necesario realizar estudios bromatológicos y definir los tiempos de alimentación, para tener mayor certeza del efecto de este suplemento en las dietas y además tener un protocolo definido del uso de esta tecnología en la larvicultura, además resultaría pertinente realizarle seguimiento y emplear los probióticos pero esta vez en la fase de postcra. Y evaluar su costo-beneficio al ser utilizado en la fase de engorde hasta alcanzar la talla comercial.



	<p><i>Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo</i></p>	
---	--	---

5. Cuadro de los resultados de conocimiento

Objetivos	Resultado esperado	Resultado obtenido	Indicador verificable del resultado	No. De anexo soporte	Observaciones
Evaluar la efectividad del probiótico utilizado.	Ampliar el conocimiento sobre la fijación de bacterias probióticas en Tilapia y Bocachico durante la fase larvaria.	Se logró con éxito avanzar y profundizar en el uso adecuado de probióticos en la dieta de larvas de Tilapia y Bocachico.	Tablas de resultado, análisis estadísticos y fotografías	Figuras 1-5. Tablas 1-10.	Se logró con éxito la realización de este objetivo

	<p><i>Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo</i></p>	
---	--	---

<p>Evaluar protocolos de alimentación con el uso de microorganismos probióticos en la fase larvaria del Bocachico y la tilapia.</p>	<p>Establecer los protocolos de alimentación con el uso de microorganismos probióticos en etapa de larvicultura de Tilapia y Bocachico.</p>	<p>Ya se ha establecido el protocolo de alimentación utilizando probióticos.</p>	<p>Resultados. análisis estadísticos y fotografías</p>	<p>Figuras 13-16</p>	<p>Se logró con éxito este objetivo.</p>
<p>Evaluar el efecto de los microorganismos probióticos en la calidad del agua de las piletas de larvicultura.</p>	<p>Establecer el impacto sobre la calidad del agua que se genera en la fase de larvicultura de Tilapia y Bocachico al utilizar probióticos.</p>	<p>Se conoce con certeza el efecto biorremediador de los probióticos en la calidad del agua.</p>	<p>Resultados y análisis estadísticos y fotografías.</p>	<p>Figuras 10-12 Tablas 11-12.</p>	<p>Se evidenció una clara mejora en la calidad del agua, en cuanto a la concentración de compuestos nitrogenados,</p>

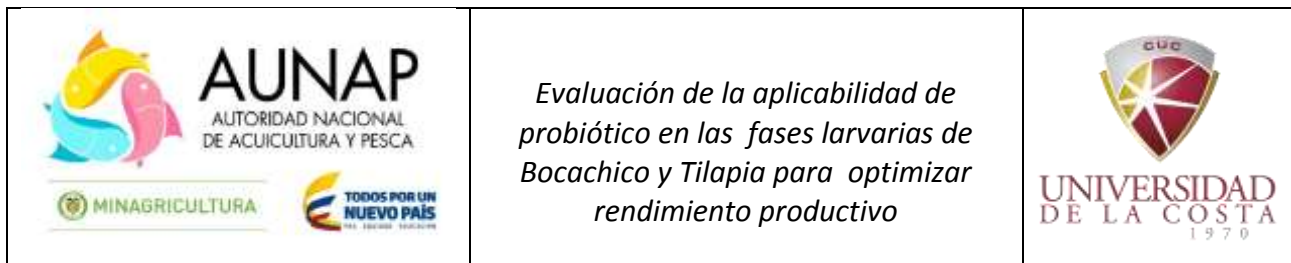
	<p><i>Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo</i></p>	
---	--	---

6. METODO

En primera instancia se realizó un cambio metodológico dentro de lo estipulado inicialmente, específicamente en el diseño experimental a utilizar pues se tenía contemplado utilizar (9 tanques donde se alimentará con el probiótico Ecobacter AQ al 5%, 10% y 15% del peso del concentrado y 3 tanques para el tratamiento control), pero al realizar las primeras preparaciones de alimento con las diferentes cantidades de probiótico, durante el proceso de secado del mismo al tener agua, nutrientes y energía (calor), ocurrió un crecimiento acelerado de las bacterias (probiótico) con el alimento por lo tanto ese rango de concentraciones de $\pm 5\%$ se perdía, en este orden de ideas para corroborar la eficacia del probiótico en la alimentación temprana de Bocachico y Tilapia se planteó el siguiente diseño experimental:

Un diseño de cuatro tratamientos con tres replicas cada uno (4*3), en donde el tratamiento #1 fue alimento concentrado con probiótico Ecobacter AQ al 10%, el tratamiento #2 fue alimento concentrado sin probiótico, el tratamiento #3 fue alimento vivo con probiótico Ecobacter AQ al 10% y el tratamiento #4 fue alimento vivo sin probiótico. Se incluyó el agua enriquecida con Microalgas en el diseño experimental porque comercialmente Ecobacter AQ se utiliza para la bioremedación de aguas, el alimento vivo correspondió a esta agua enriquecida con microalgas.

La preparación del alimento que se utilizó durante la fase experimental es concentrado de la marca comercial Itacol con 34% de proteína, para esta preparación primero se realiza una molienda del alimento y se tamiza para obtener un tamaño de partícula apropiado para la larvicultura (Figura 1), posteriormente se realizó una impregnación del alimento tamizado con el prebiótico que fue disuelto en agua destilada para que la mezcla fuese homogénea (Figura 2), por último se secó a una temperatura constante de

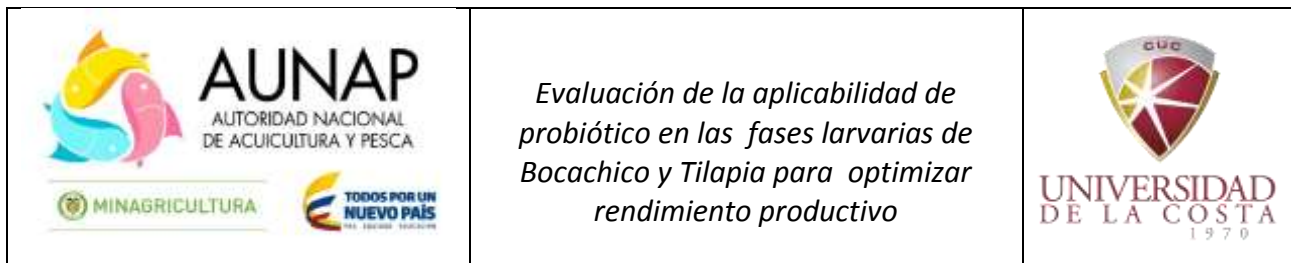


36°C durante una semana (Figura 3) y finalmente se pulveriza nuevamente de forma manual y se almacena para su uso en los bioensayos.

El otro alimento que se empleó en el diseño experimental durante el proyecto será alimento vivo, que para este caso será agua enriquecida con Microalgas y zooplancton (agua verde) la cual se preparó en tanques de 1000 litros utilizando agua proveniente del embalse el Guajaro y se inoculo con arrastres de fitoplancton y zooplancton provenientes del reservorio de la estación acuícola (Figura 4), posterior a la inoculación se agregaron algunos nutrientes y se mantuvo con luz y aireación constante para crear un mesocosmos (Figura 5), en el caso del tratamiento en donde se utiliza alimento vivo con probiótico se utilizara el 10% del volumen de “agua verde” a utilizar. Cabe destacar que esta agua enriquecida con plancton antes de adicionarse a la dieta de los peces, pasaba por un tamiz de 300 µm con el fin de excluir ciertos tipos de parásitos o depredadores, pero garantizando el paso de especies clave como los rotíferos que son bioencapsuladores de materia orgánica, o los cladóceros y copépodos que son especies preferidas por las larvas de Bocachico y Tilapia..

De este modo se obtuvieron los alimentos que se están empleando durante los bioensayos con Tilapia y Bocachico, en cuanto a la Tilapia se realizó un acondicionamiento de los estanques (APA) donde se realizaron los cruces y se obtuvieron las cantidades de larvas deseadas para utilizar (Figura 6), además se prepararon los medios de cultivo para las siembras y comprobación de la asimilación o no del probiótico (Figura 7) y también se mantuvo un cultivo a escala pequeña de Probiótico Ecobacter AQ para mantener una reserva del mismo en caso de algún contratiempo (Figura 8).

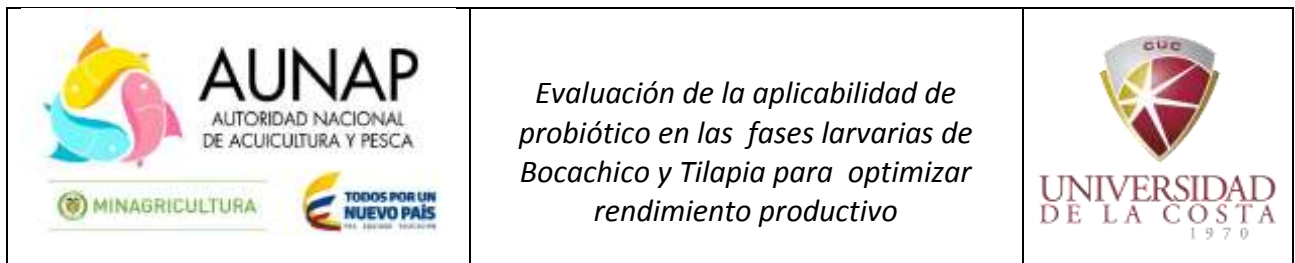
Para la realización del montaje experimental de los dos bioensayos, en primera instancia se realizó un lavado y esterilización de los tanques de fibra de vidrio a utilizar, utilizando peroxido (Figura 9), para el caso de las Tilapias se utilizaron



para la siembra larvas de 0,010 gramos y 8 mm en promedio, a una densidad de siembra de 30 larvas/litro, con el Bocachico se emplearon larvas de 0,009 gramos y 5.8 mm a la misma densidad de siembra; la alimentación de las larvas se realizó cuatro veces al día, de este modo se garantizó una saciedad y que todos los individuos de la muestra pudiesen lograr alimentarse, diariamente (Figura 10) se llevó un registro de parámetros fisicoquímicos (Oxígeno, pH, Conductividad, Temperatura) para observar el comportamiento de estas variables ambientales y poder correlacionarlas con parámetros propios de la población (Supervivencia y crecimiento), además semanalmente se realizó una medición del nitrógeno y fosforo presentes en el agua (Figura 11).

Finalizado el bioensayo se tomaron dos muestras de 30 animales cada una en cada tanque, en donde una fue fijada usando formalina al 4% y la otra se conservó en agua del medio para ser utilizada inmediatamente en laboratorio (Figura 12). De este modo la muestra que se fijó en cada tanque se almaceno y se mantiene en refrigeración a 4°C para ser utilizada a futuro en análisis posteriores de Microscopia Óptica de Alta Resolución y determinar a una mayor resolución taxonómica las especies microbianas que componen el probiótico utilizado.

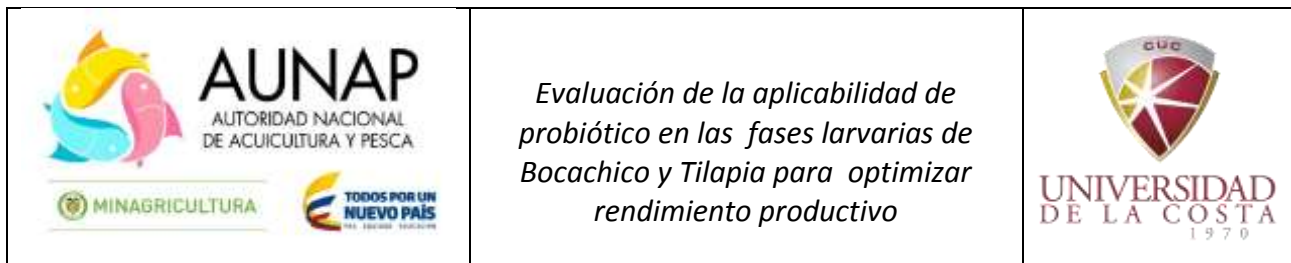
La muestra de peces que se mantuvieron con agua del medio, se sacrificaron y se descartó la cabeza, para luego realizar un macerado (Figura 13) el cual se inoculo en agar específico con azul de anilina periodo de 24 horas (Figura 14), y de este modo comprobar la asimilación o no del probiótico Ecobacter por parte del animal, para evidenciar el éxito de dicha asimilación se tipificaron en su forma, tamaño y numero las unidades formadoras de colonias (Figura 15 y 16). Para conocer cómo era la forma y tamaño regular de la microbiota proveniente del probiótico utilizado, previamente se efectuó un sembrado de Ecobacter en el agar utilizado y se realizó una identificación general de las bacterias que constituyen el probiótico utilizando un kit de Gram (Figura 17)



encontrando que son de tipo Gram negativo es decir que son resistentes a daños químicos. De este modo con la misma muestra macerada se realizó también una tinción de Gram.

La forma de evidenciar el efecto del probiótico en el cultivo de Tilapia y Bocachico, además de la supervivencia de los animales fue la talla y peso, que son parámetros cruciales en los cultivos de las especies, para esto se tomaron submuestras de cada replica las cuales se midieron y pesaron (Figuras 18 y 19).

Otro aspecto crucial de este trabajo consistió en transmitir la información obtenida a la comunidad que más sería beneficiada en este caso que son los acuicultores de la región, los cuales constantemente están en la búsqueda de mejorar sus cultivos, para esto se realizaron los talleres con la comunidad para dar a conocer esta alternativa para optimizar los procesos productivos (Figura 20).



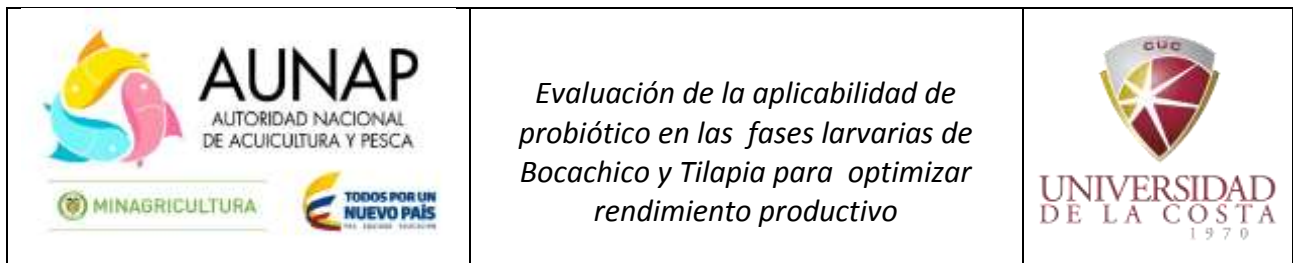
7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

A continuación se muestra de forma sistemática los resultados y análisis estadísticos de los ensayos realizados para evaluar el efecto del uso de probióticos en la larvicultura de Tilapia y Bocachico:

a. Resultados ensayo Tilapia

Se encontró que los mejores resultados en cuanto a talla y peso se obtuvieron en el tratamiento en donde se usó alimento concentrado con probiótico (Tabla 1), en cuanto a las tallas de las larvas finalizado el ensayo la prueba ANOVA arrojo diferencias significativas entre los tratamientos *p* valor: 0.0000 (Tabla 2) no obstante la prueba de múltiples rangos de Tukey (Tabla 3) mostro que las tallas de las larvas entre los tratamientos de concentrado + probiótico y concentrado son similares es decir que estadísticamente no muestra un efecto contundente sobre este factor en el animal, aunque sigue siendo más alto el valor para los tratamientos en donde se empleó el probiótico, caso similar a los datos de las tallas ocurrió con los pesos de las larvas en donde también se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos *p* valor: 0.0054 (Tabla 4) y la prueba a posteriori (Tabla 5) mostro la misma tendencia que para el caso de las tallas.

Por lo tanto con estos resultados se evidenció que efectivamente los probióticos tienen un efecto benéfico en el crecimiento y engorde en las larvas de Tilapia, en el caso de la supervivencia que en promedio para los cuatro tratamientos fue del 60% fue relativamente normal considerando que en esta fase se presentan grandes mortalidades, no se mostró en este parámetro diferencias entre los tratamientos pues la Tilapia debido a su biología no requiere estrictamente larvicultura con alimento vivo (Kennedy *et al*, 2013).



Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo

Tabla 1. Datos promedio de la talla y peso de las larvas de Tilapia tras finalizado el bioensayo.

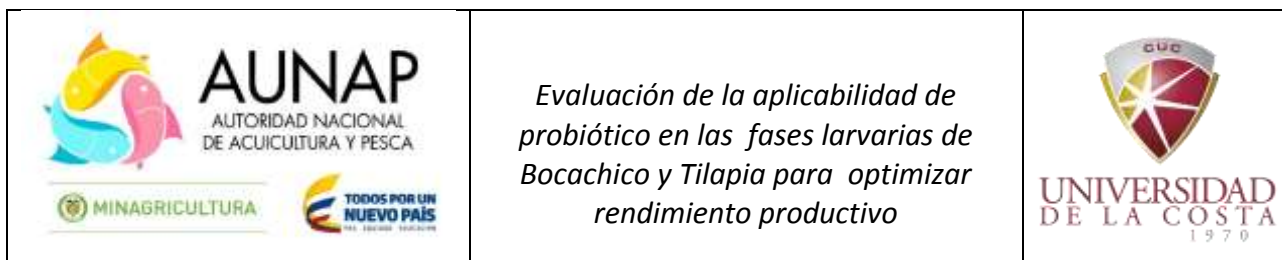
	Concentrado+ Probiótico	Concentrado	Alimento vivo + Probiótico	Alimento vivo
Talla (mm)	14,76	12,8	10,87	10,8
Peso (Gramos)	0,056	0,042	0,028	0,021

Tabla 2. Análisis de varianza realizado con los valores de las tallas de las larvas de Tilapia tras finalizado el bioensayo.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	46,6867	3	15,5622	64,74	0,0000
Intra grupos	1,92296	8	0,24037		
Total (Corr.)	48,6096	11			

Tabla 3. Prueba a posteriori de Tukey realizado con los valores de las tallas de las larvas de Tilapia tras finalizado el bioensayo.

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Alimento vivo	3	10,8	X
Alimento vivo + Probiotico	3	10,8778	X
Concentrado+ Probiotico	3	14,7667	X
Concentrado	3	14,8	X
<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
Concentrado+ Probiotico - Concentrado		-0,0333333	1,28147
Concentrado+ Probiotico - Alimento vivo + Probiotico	*	3,88889	1,28147
Concentrado+ Probiotico - Alimento vivo	*	3,96667	1,28147
Concentrado - Alimento vivo + Probiotico	*	3,92222	1,28147
Concentrado - Alimento vivo	*	4,0	1,28147
Alimento vivo + Probiotico - Alimento vivo		0,0777778	1,28147



Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo

Tabla 4. Análisis de varianza realizado con los valores de los pesos de las larvas de Tilapia tras finalizado el bioensayo.

Tabla ANOVA					
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,00284756	3	0,000949185	9,36	0,0054
Intra grupos	0,000811556	8	0,000101444		
Total (Corr.)	0,00365911	11			

Tabla 5. Prueba a posteriori de Tukey realizado con los valores de los pesos de las larvas de Tilapia tras finalizado el bioensayo.

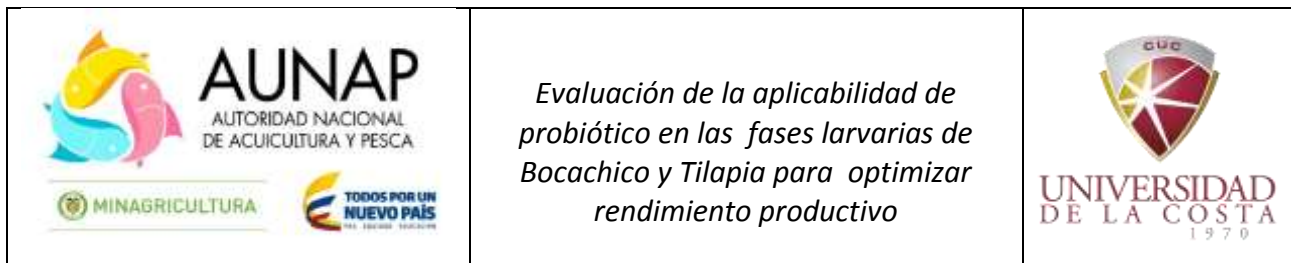
Pruebas de Múltiple Rangos			
Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD			
	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Alimento vivo	3	0,0214444	X
Alimento vivo + Probiotico	3	0,0281111	X
Concentrado+ Probiotico	3	0,055	X
Concentrado	3	0,0554444	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Concentrado+ Probiotico - Concentrado		-0,000444445	0,0263259
Concentrado+ Probiotico - Alimento vivo + Probiotico	*	0,0268889	0,0263259
Concentrado+ Probiotico - Alimento vivo	*	0,0335556	0,0263259
Concentrado - Alimento vivo + Probiotico	*	0,0273333	0,0263259
Concentrado - Alimento vivo	*	0,034	0,0263259
Alimento vivo + Probiotico - Alimento vivo		0,00666667	0,0263259

* indica una diferencia significativa.

b. Resultados ensayo Bocachico

Los mejores resultados en cuanto a talla y peso se obtuvieron en el tratamiento en donde se usó alimento vivo con probiótico (Tabla 6), en cuanto a las tallas de las larvas finalizado el ensayo la prueba ANOVA arrojó diferencias significativas entre los tratamientos p valor: 0.0001 (Tabla 7) además, la prueba de múltiples rangos de Tukey (Tabla 8) mostro que las tallas de las larvas entre los tratamientos de *alimento vivo + probiótico* y *concentrado + probiótico* y *concentrado*, tuvieron un comportamiento similar, es decir que el probiótico tiene un efecto contundente sobre el crecimiento de los animales. Con el peso de las larvas también se encontraron diferencias significativas entre los



tratamientos p valor: 0.0054 (Tabla 9) y la prueba a posteriori (Tabla 10) mostro la misma tendencia que para el caso de las tallas, aunque el tratamiento de alimento vivo + probiótico mostro un comportamiento estadísticamente distinto al de los demás.

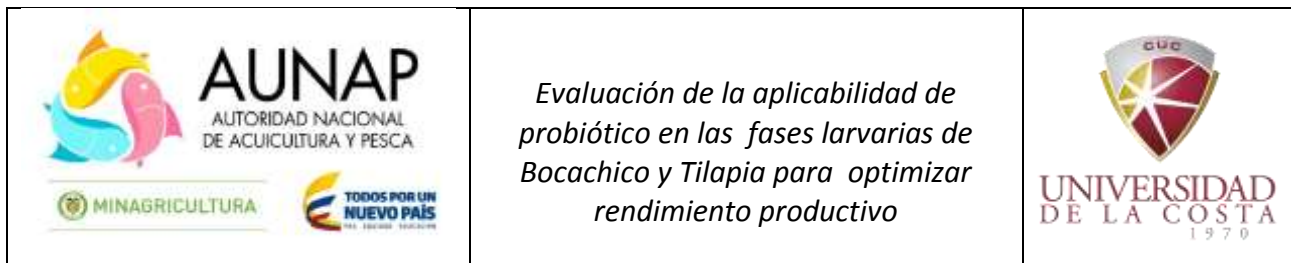
De este modo se demostró que los probióticos son una buena técnica para ser implementada en la larvicultura de Bocachico, aunque el efecto fue más favorable en el ensayo que involucro el uso de alimento vivo y esto se debe a que esta especie es netamente carnívora en sus primeros estadios y necesita estímulos como lo son el atrapar a la presa (Atencio & Prieto, 2008), probablemente si se usa el probiótico de manera conjunta con el concentrado en estadios posteriores de vida los resultados también sean igual de favorables.

Tabla 6. Datos promedio de la talla y peso de las larvas de Bocachico tras finalizado el bioensayo.

	Concentrado+ Probiótico	Concentrado	Alimento vivo + Probiótico	Alimento vivo
Talla (mm)	16,97	14,28	18,23	12,86
Peso (Gramos)	0,08	0,05	0,11	0,03

Tabla 7. Análisis de varianza realizado con los valores de las tallas de las larvas de Bocachico tras finalizado el bioensayo.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	54,2006	3	18,0669	32,50	0,0001
Intra grupos	4,44741	8	0,555926		
Total (Corr.)	58,648	11			



Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo

Tabla 8. Prueba a posteriori de Tukey realizado con los valores de las tallas de las larvas de Bocachico tras finalizado el bioensayo.

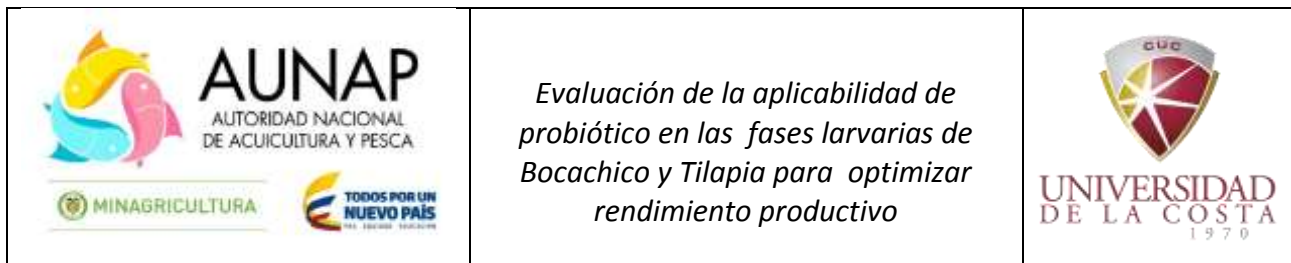
Pruebas de Múltiple Rangos			
Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD			
	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Alimento vivo	3	12,8556	X
Concentrado	3	14,2833	X
Concentrado+ Probiotico	3	16,9667	X
Alimento vivo + Probiotico	3	18,2333	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Concentrado+ Probiotico - Concentrado	*	2,68333	1,94884
Concentrado+ Probiotico - Alimento vivo + Probiotico		-1,26667	1,94884
Concentrado+ Probiotico - Alimento vivo	*	4,11111	1,94884
Concentrado - Alimento vivo + Probiotico	*	-3,95	1,94884
Concentrado - Alimento vivo		1,42778	1,94884
Alimento vivo + Probiotico - Alimento vivo	*	5,37778	1,94884

* indica una diferencia significativa.

Tabla 9. Análisis de varianza realizado con los valores de los pesos de las larvas de Bocachico tras finalizado el bioensayo.

Tabla ANOVA					
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,0126464	3	0,00421547	18,26	0,0006
Intra grupos	0,0018472	8	0,0002309		
Total (Corr.)	0,0144936	11			



Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo

Tabla 10. Prueba a posteriori de Tukey realizado con los valores de los pesos de las larvas de Bocachico tras finalizado el bioensayo.

Pruebas de Múltiple Rangos			
Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD			
	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Alimento vivo	3	0,0292222	X
Concentrado	3	0,0461667	XX
Concentrado+ Probiotico	3	0,0761111	XX
Alimento vivo + Probiotico	3	0,114667	X

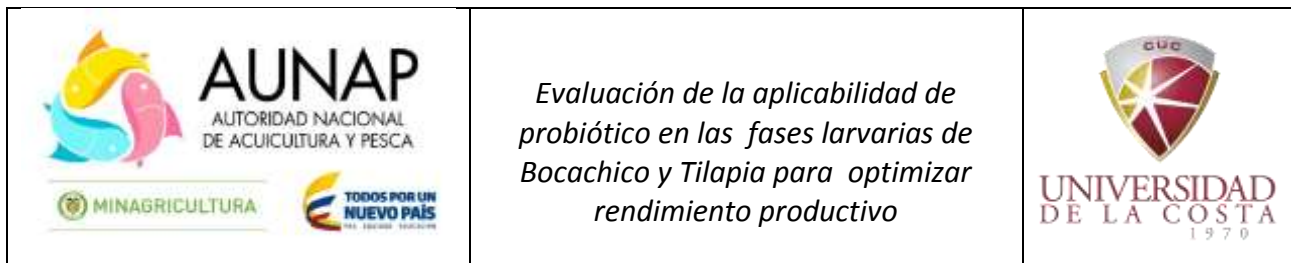
<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
Concentrado+ Probiotico - Concentrado		0,0299444	0,0397174
Concentrado+ Probiotico - Alimento vivo + Probiotico		-0,0385556	0,0397174
Concentrado+ Probiotico - Alimento vivo	*	0,0468889	0,0397174
Concentrado - Alimento vivo + Probiotico	*	-0,0685	0,0397174
Concentrado - Alimento vivo		0,0169444	0,0397174
Alimento vivo + Probiotico - Alimento vivo	*	0,0854444	0,0397174

* indica una diferencia significativa.

c. Calidad fisicoquímica del agua

Un aspecto fundamental de la investigación fue el comprobar si además, los probióticos tenían un efecto benéfico en la calidad del agua de cultivo, es decir si tienen un efecto biorremediador en el agua de cultivo de los peces, para esto se realizaban ediciones periódicas y los valores promedios de la medición de dichos factores se expresa en las tablas 11 y 12, para los tratamientos en donde se sembró Bocachico y Tilapia.

En cuanto a la temperatura fue contante y e mantuvo dentro de los parámetros óptimos para el cultivo de ambas especies y con el oxígeno ocurrió lo mismo siempre con valores por encima de 4.5 m/L que es el valor crítico en el cual por debajo de este se compromete el buen desarrollo de cualquier cultivo, el pH también estuvo dentro de lo normal y la dureza del agua también fue buena. Caso interesante ocurrió con los compuestos nitrogenados para ambos casos, es decir los tratamientos en donde se sembró Tilapia y Bocachico y es que en donde se utilizaron probióticos los valores de NH4 fue más altos, es decir la





forma que es más fácil de asimilar por parte de los animales, y las formas del nitrógeno que son más nocivas para la biota NO_2 y NH_3 fueron más bajas. Es decir que efectivamente el probiótico ejerce una actividad probiotica en el agua, favoreciendo así la supervivencia y crecimiento de las larvas. Concordando con resultados y postulaciones sugeridas por otros autores desde hace muchas décadas como Lilly & Stillwell en 1965 o ya más recientemente Balcazar *et al* (2013), para el uso de los probióticos en la acuicultura.

Tabla 11. Datos promedio de los factores fisicoquímicos medidos a los bioensayos donde se utilizó larvas de Tilapia.

ENSAYO	T (°C)	Oxig. (m/L)	O Dis.	pH	Cond.	N	NO_2	NH_3	NH_4
Concentrado+ Probiótico	27,73	6,85	83,3	7,83	794	0,174	0,564	0,22	0,23
Concentrado	27,9	5,68	72,53	7,787	870,33	0,19	0,62	0,26	0,27
Alimento vivo + Probiótico	27,87	6,57	79,57	7,937	901,33	-	-	0,09	0,1
Alimento vivo	27,97	6,22	77,5	7,897	807,33	0,133	0,436	0,08	0,09

Tabla 12. Datos promedio de los factores fisicoquímicos medidos a los bioensayos donde se utilizó larvas de Bocachico.

ENSAYO	T (°C)	Oxig. (m/L)	O Dis.	pH	Cond.	N	NO_2	NH_3	NH_4
Concentrado+ Probiótico	28,1	7,23	84,1	7,87	835,7	0,007	0,023	0,03	0,03
Concentrado	28	7,37	88	7,18	816	0,002	0,008	0,12	0,13
Alimento vivo + Probiótico	27,7	6,77	84,1	7,89	1017	0,025	0,082	0,12	0,13
Alimento vivo	27,9	7,52	87,5	7,85	860	0,357	1,183	0,09	0,1

	<p><i>Evaluación de la aplicabilidad de probiótico en las fases larvarias de Bocachico y Tilapia para optimizar rendimiento productivo</i></p>	
---	--	---

8. Bibliografía

- Balcazar J.L., Blas I., Ruíz-Zarzuela I., Cunningham D., Vendrell D., Muzquiz J.L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology* 114 173–186
- Lilly, D.M. & Stillwell, R.H. (1965). Probiotics growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 147: 747-748.
- Atencio V. & Prieto M. 2008. Zooplancton en la larvicultura de peces neotropicales. *Rev.MVZ Córdoba* 13(2):1415-1425.
- Kennedy R., Heringer A., Melillo R., Maldonado E & Teixeira E. 2013. Larvicultura de tilápia em água doce e água. *Pesq. agropec. bras., Brasília*, 48(6): 1150-1153.

ANEXOS



Figura 1. Molienda del concentrado para ser posteriormente tamizado.



Figura 2. Alimento mezclado con probiótico.



Figura 3. Secado de alimento preparado.



Figura 4. Arrastres de fito y zooplancton en el reservorio de la estación acuícola.



Figura 5. Agua enriquecida con fitoplancton y zooplancton para utilizar como alimento vivo.



Figura 6. Tanques de cruces reproductivos de Tilapia.



Figura 7. Medio de cultivo donde se realizarán las siembras de los tractos digestivos de las larvas.



Figura 8. Cultivo de probiótico en laboratorio.



Figura 9. Limpieza y esterilización de tanques para bioensayos.



Figura 10. Medición de parámetros fisicoquímicos en los tanques.



Figura 11. Utilización del Fotómetro para la determinación de las cantidades de Nitrógeno y Fosforo en el agua.



Figura 12. Muestras de individuos tomadas en los 24 tanques que corresponden a los ensayos de Tilapia y Bocachico.



Figura 13. Procesamiento de las muestras para inocular el agar.



Figura 14. Agar MRS específico preparado con azul de anilina.



Figura 15. Incubación del agar inoculado.



Figura 16. Conteo y comprobación de la asimilación del probiótico por parte de los animales.



Figura 17. Tinción de Gram para diferenciar los tipos de bacterias presentes en los intestinos de los peces.

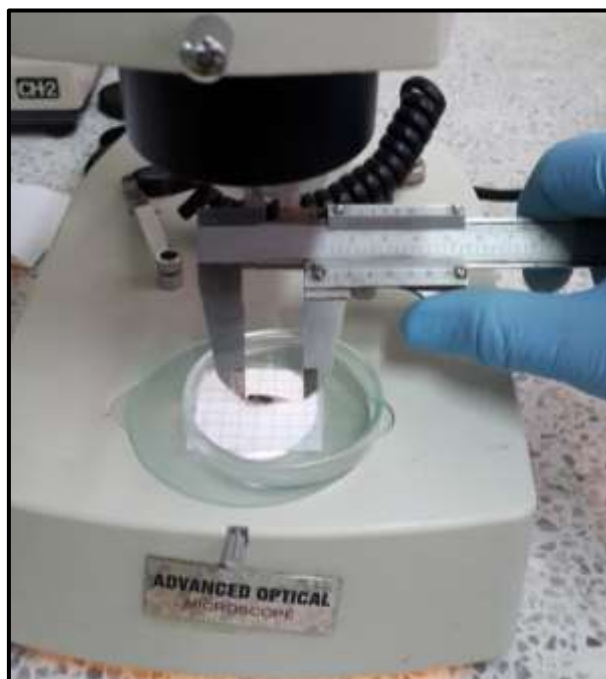


Figura 18. Medición de la talla de los ejemplares utilizados en los bioensayos.



Figura 19. Medición del peso de los ejemplares utilizados en los bioensayos.

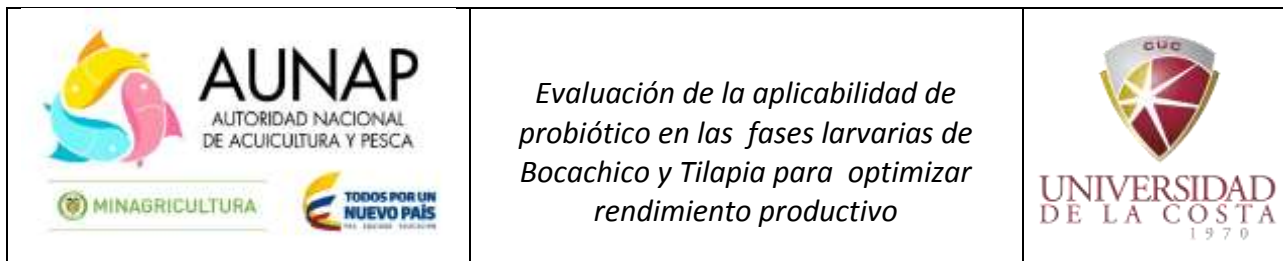


Figura 20. Charlas para dar a conocer los probióticos y el beneficio de su uso en los cultivos, impartida a acuicultores de la Región.