



EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE JUVENILES DE CACHAMA BLANCA
Piaractus brachypomus (CUVIER, 1818) UTILIZANDO PROBIÓTICO Y
LEVADURA

SAEKO ISABEL GAITÁN IBARRA

UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA
INSTITUTO DE POSTGRADO - FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN ACUICULTURA Y ECOLOGÍA ACUÁTICA TROPICAL
SANTA MARTA D T C H
2008

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE JUVENILES DE CACHAMA BLANCA
Piaractus brachypomus (CUVIER, 1818) UTILIZANDO PROBIÓTICO Y
LEVADURA**

SAEKO ISABEL GAITÁN IBARRA

Tesis de grado presentada para optar al título de *Magister* en Acuicultura y
Ecología Acuática Tropical

Director

M. Sc. NICOLÁS CHAPARRO MUÑOZ

**UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA
INSTITUTO DE POSTGRADO - FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN ACUICULTURA Y ECOLOGÍA ACUÁTICA TROPICAL
SANTA MARTA D T C H
2008**

MAET-00002
EJ 2

NOTA DE ACEPTACIÓN

Director

Evaluador

Evaluador

Santa Marta D.T.C.H., noviembre de 2008



DEDICATORIA

Dedico este logro a DIOS, ser supremo que me dio el don de la vida y junto con ella el talento, la fortaleza y la paciencia que me ha permitido superarme, sobre todo para sobrellevar momentos de desvelo y trasnochos durante el periodo de lactancia de mi hijo que coincidió con el inicio de mis estudios de post grado.

A mi familia, a quienes les he robado tiempo valioso para dedicárselo a mis estudios y que solo Dios sabe el sacrificio que esto ha significado para mi.

A mi maravilloso esposo JAIRO, un hombre noble y lleno de cualidades, quien con sus sabias palabras de apoyo y ánimo no me dejó desfallecer en los momentos más difíciles, y debo reconocer que sin su ayuda alcanzar esta meta hubiese sido más difícil.

A mis bebés ISA y SEBAS, los cuales son la razón de todo este esfuerzo, y a quienes continuaré retribuyendo con amor y cariño todo la felicidad que me han proporcionado, aún desde antes de nacer. Sólo el sentimiento de madre hace que uno saque las fuerzas de donde no hay para continuar.

A mis padres Gastón y Alcira (QEPD) quienes desde sus posibilidades no escatimaron esfuerzos en mi formación y siempre han estado allí tanto física como espiritualmente, acompañándome y protegiéndome.

A mis hermanos Ricardo, Isabel (QEPD), Alcira, Nedelya, Gustavo, Gastón, Consuelo, Manuel, Rosa quienes en todo momento han confiado en mí y aún en la distancia me han hecho sentir que están conmigo como siempre y a mi suegra Angelina que ha sido como una segunda madre.

AGRADECIMIENTOS

A la UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA, Institución que ha permitido hacer realidad mi formación de Postgrado, en principio con la Especialización en Acuicultura y ahora con la Maestría. Espero, entonces, retribuirle como lo he venido haciendo con un alto nivel de formación a los estudiantes de pregrado y seguir creciendo con ella en el área investigativa.

Al profesor Nicolás Chaparro, director de la tesis y gran amigo e Investigador Principal del Proyecto “EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE JUVENILES DE CACHAMA BLANCA *Piaractus brachypomus* (CUVIER, 1818) UTILIZANDO PROBIÓTICO Y LEVADURA”, aprobado en el marco de la convocatoria de FONCIENCIAS y financiado por la Universidad del Magdalena a través de la Vicerrectoría de Investigación.

Al Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA quienes vienen apostando al desarrollo de la investigación como parte de la formación de sus aprendices, agradezco a la subdirectora del Centro Acuícola y Agroindustrial del SENA de Gaira Doctora Emperatriz Talero y muy especialmente a los funcionarios Aroldo Daza, Alberto Mozo, Álvaro Bornacelli y Francisco Legarda quienes con sus aportes y sugerencias en cada una de sus áreas fortalecieron esta investigación. A la microbióloga Juliana Aguilar, contratista del SENA, quien me brindó su irrestricto apoyo y conocimientos y que, finalmente, permitió realizar los análisis microbiológicos de la investigación. Asimismo a los aprendices patrocinados Guillermo Coronado, Érica, Xavier Martínez, Geovani Caro y James Herrera quienes colaboraron en la realización de la misma, también a Karina Fernández tesista de la Universidad La Salle.

Al Ingeniero Juan Carlos De La Rosa, Director del Programa de Ingeniería Pesquera quien facilitó mi desempeño como docente catedrático del Programa, lo cual me permitió cumplir con los compromisos académicos de la Maestría.

A los estudiantes de pregrado de Ingeniería Pesquera Vianys Agudelo, Angélica Fuentes, Yair Andrade, Heydi Pérez, Wency Vergara, Eider Muñoz, Eddie Sanjuanelo, Bryan Effer, Jorge Álvarez, Olga Alfaro, Alex Manjarrés y Carlos Julio Montero, quienes se constituyeron en un apoyo fundamental para la realización del trabajo de campo y que muy seguramente sin su colaboración y sacrificio, el esfuerzo que demandó esta fase de la investigación hubiese sido más complejo. Para todos y cada uno de ellos mi agradecimiento y amistad.

A mis compañeros de Postgrado: Pedro Eslava, a quien considero más que un compañero un gran amigo, Gloria Ospina, Germán Blanco, Carlos Trujillo, Olga Camacho, Judith Barros, Cesar Tamariz, Mario Gándara, Ernesto Acosta, con quienes compartí momentos agradables y con quienes cultive y en algunos casos fortalecí lazos de amistad.

A todos los profesores que hicieron parte de la primera cohorte de la maestría.

A la coordinadora de la Maestría Silvia Carrera y a Adriana Patiño quienes con su comprensión colaboraron en los trámites administrativos, haciendo posible cumplir con los tiempos del calendario académico.

A los Jurados: Dr. Ebehard Wedler, quien ha sido parte activa en el proceso de mi formación profesional tanto en pregrado como en postgrado y al cual le estoy muy agradecida y al Dr. Víctor Márquez quien además de ser mi profesor, como directivo creyó en mí como docente y profesional.

AGRADECIMIENTOS

A la UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA, Institución que ha permitido hacer realidad mi formación de Postgrado, en principio con la Especialización en Acuicultura y ahora con la Maestría. Espero, entonces, retribuirle como lo he venido haciendo con un alto nivel de formación a los estudiantes de pregrado y seguir creciendo con ella en el área investigativa.

Al profesor Nicolás Chaparro, director de la tesis y gran amigo e Investigador Principal del Proyecto "EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE JUVENILES DE CACHAMA BLANCA *Piaractus brachypomus* (CUVIER, 1818) UTILIZANDO PROBIÓTICO Y LEVADURA", aprobado en el marco de la convocatoria de FONCIENCIAS y financiado por la Universidad del Magdalena a través de la Vicerrectoría de Investigación.

Al Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA quienes vienen apostando al desarrollo de la investigación como parte de la formación de sus aprendices, agradezco a la subdirectora del Centro Acuícola y Agroindustrial del SENA de Gaira Doctora Emperatriz Talero y muy especialmente a los funcionarios Aroldo Daza, Alberto Mozo, Álvaro Bornacelli y Francisco Legarda quienes con sus aportes y sugerencias en cada una de sus áreas fortalecieron esta investigación. A la microbióloga Juliana Aguilar, contratista del SENA, quien me brindó su irrestricto apoyo y conocimientos y que, finalmente, permitió realizar los análisis microbiológicos de la investigación. A asimismo a los aprendices patrocinados Guillermo Coronado, Xavier Martínez, Geovani Caro y James Herrera quienes colaboraron en la realización de la misma, también a Karina Fernández tesista de la Universidad La Salle.

Al Ingeniero Juan Carlos De La Rosa, Director del Programa de Ingeniería Pesquera quien facilitó mi desempeño como docente catedrático del Programa, lo cual me permitió cumplir con los compromisos académicos de la Maestría.

A los estudiantes del pregrado de Ingeniería Pesquera Vianys Agudelo, Angélica Fuentes, Yair Andrade, Heydi Pérez, Wency Vergara, Eider Muñoz, Eddie Sanjuanelo, Bryan Effer, Jorge Álvarez, Olga Alfaro, Alex Manjarrés y Carlos Julio Montero, quienes se constituyeron en un apoyo fundamental para la realización del trabajo de campo y que muy seguramente sin su colaboración y sacrificio, el esfuerzo que demandó esta fase de la investigación hubiese sido más complejo. Para todos y cada uno de ellos mi agradecimiento y amistad.

A mis compañeros de Postgrado: Pedro Eslava, a quien considero más que un compañero un gran amigo, Gloria Ospina, Germán Blanco, Carlos Trujillo, Olga Camacho, Judith Barros, Cesar Tamariz, Mario Gándara, Ernesto Acosta, con quienes compartí momentos agradables y con quienes cultive y en algunos casos fortalecí lazos de amistad.

A todos los profesores que hicieron parte de la primera cohorte de la maestría.

A la coordinadora de la Maestría Silvia Carrera y Adriana Patiño quien con su comprensión colaboró en los trámites administrativos, haciendo posible cumplir con los tiempos del calendario académico.

A los Jurados: Dr. Ebehard Wedler, quien ha sido parte activa en el proceso de mi formación profesional tanto en pregrado como en postgrado y al cual le estoy muy agradecida y al Dr. Víctor Márquez quien además de ser mi profesor, como directivo creyó en mí como docente y profesional.



CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN	15
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
3. ESTADO DEL ARTE O ANTECEDENTES	21
3.1 GENERALIDADES	
3.2 UBICACIÓN TAXONÓMICA Y MORFOLÓGICA	22
3.3 BIOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN	22
3.4 PROBIÓTICOS	23
3.4.1. Definición	23
3.4.2 Mecanismo de Acción	24
3.4.3 Empleo de los probióticos en diferentes organismos	26
3.4.3.1 Humano	26
3.4.3.2 Animales domésticos	27
3.4.3.3 Uso en la acuicultura	28
3.4.4 Productos empleados en esta investigación	32
3.4.4.1 <i>Lactobacillus</i>	34
3.4.4.2 <i>Bacillus</i>	34
3.4.4.3 Bacterias nitrificantes	35
3.4.4.4 <i>Saccharomyces</i>	37
3.5 DIGESTIBILIDAD	38
3.5.1 Factores que afectan la digestibilidad	39
3.5.2 Medidas de la digestibilidad	40
4. OBJETIVOS	42
4.1 OBJETIVO GENERAL	42
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
5. ÁREA DE ESTUDIO	43
6. METODOLOGÍA	44
6.1 FASE DE PRE-LEVANTE	44
6.2 FASE EXPERIMENTAL	44
6.3 ELABORACIÓN DE LA DIETA	45
6.4 BIOMETRÍAS	48
6.5 EVALUACIÓN DEL ALIMENTO	49
6.6 DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE	50
6.6.1 Fase de evaluación de la digestibilidad	50

6.6.2	Preparación y suministro de las dietas	51
6.6.3	Procesamiento de las muestras	52
6.6.4	Análisis químico	52
6.7	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS HECES	53
6.7.1	Medios de cultivo para crecimiento	54
6.7.2	Recuento de microorganismos	55
6.8	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	57
7.	RESULTADOS	58
7.1	EVALUACIÓN DEL ALIMENTO	58
7.2	SOBREVIVENCIA	63
7.3	ANÁLISIS DE NUTRIENTES	64
7.4	COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE (CDA)	65
7.5	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	70
7.6	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	71
8.	DISCUSIÓN	73
9.	CONCLUSIONES	82
10.	RECOMENDACIONES	84
	BIBLIOGRAFÍA	85
	ANEXOS	94



LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Algunos probióticos utilizados en el tratamiento o prevención de enfermedades en humanos.	27
Tabla 2. Revisión de algunos reportes de probióticos como agentes de control biológico en acuicultura.	31
Tabla 3. Características de las especies representativas del genero <i>Bacillus</i> y posición de las esporas.	35
Tabla 4. Características generales de las bacterias nitrificantes.	36
Tabla 5. Composición porcentual de ingredientes de la dieta al 32% de proteína semejante a los requerimientos nutricionales de <i>Piaractus brachypomus</i> .	45
Tabla 6. Resumen de los resultados de las pruebas estadísticas para determinar los supuestos de normalidad y homogeneidad para cada una de las variables.	58
Tabla 7. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada a la ganancia en peso para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras.	59
Tabla 8. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al consumo de alimento para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras.	60
Tabla 9. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada a la Tasa Especifica de Crecimiento (SGR) para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.	61
Tabla 10. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al factor de Conversión Alimenticia Aparente (FCR) para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.	62
Tabla 11. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada a la Tasa de Eficiencia de Utilización de Proteína (PER) para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.	63
Tabla 12. Porcentaje de sobrevivencia acumulada de juveniles de <i>Piaractus brachypomus</i> para cada tratamiento (T1:Probiótico 0.05%,	64

T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control) durante las cinco biometrías realizadas.

Tabla 13.	Composición química de los nutrientes y el oxido de cromo (Cr_2O_3) en las dietas ensayadas.	65
Tabla 14.	Composición química de los nutrientes y el oxido de cromo (Cr_2O_3) en las heces recolectadas.	65
Tabla 15.	Coefficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) para la dieta formulada y sus nutrientes (proteína, extracto etéreo y cenizas).	66
Tabla 16.	Resumen de los resultados de las pruebas estadísticas para determinar los supuestos de normalidad y homogeneidad de los diferentes Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA).	66
Tabla 17.	Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la dieta para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.	67
Tabla 18	Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la proteína para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.	68
Tabla 19	Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) del extracto etéreo para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.	69
Tabla 20	Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de cenizas para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.	69
Tabla 21	Parámetros fisicoquímicos registrados para cada tratamiento durante los días del experimento.	72

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Juvenil de cachama blanca <i>Piaractus brachypomus</i> (Cuvier, 1818).	22
Figura 2. Presentación comercial del Probiótico Nutribacter® y la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> utilizados en la investigación.	33
Figura 3. Estación Piscícola del Centro Acuícola y Agroindustrial SENA en Gaira.	43
Figura 4. Distribución de los tanques de 250 l en la fase experimental con aireación y recambio permanente.	45
Figura 5. Obtención del alimento concentrado ya homogenizado en tirillas a partir de un molino eléctrico	47
Figura 6. Esquema del diseño experimental que se utilizó para evaluar los diferentes niveles de inclusión de probiótico y levadura en una dieta al 32% de proteína suministrada a juveniles de cachama blanca <i>Piaractus brachypomus</i> .	47
Figura 7. Medición y pesaje de ejemplares de <i>Piaractus brachypomus</i> durante las biometrías realizadas quincenalmente.	49
Figura 8. Recolección de heces de <i>P. brachypomus</i> durante la fase de evaluación de la digestibilidad.	51
Figura 9. Procesos de centrifugado de las muestras con heces (a) y secado en crisoles al horno para obtención de materia seca.	52
Figura 10. Disección abdominal para obtención de estómagos (a) y pesaje de cada uno en balanza digital (b).	54
Figura 11. Frasco roscado con dilución 10^{-1} (10g de estomago y 90 ml de solución salina al 0.1%).	56
Figura 12. Micropipeta para la siembra superficial de las diluciones en el agar MRS.	56
Figura 13. Gráfico de comparación de medias de la ganancia en peso de juveniles de <i>Piaractus brachypomus</i> por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).	59

- Figura 14. Gráfico de comparación de medias del consumo de alimento de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1: Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control). 60
- Figura 15. Gráfico de comparación de medias de la Tasa Especifica de Crecimiento (SGR) de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control). 61
- Figura 16 Gráfico de comparación de medias del Factor de Conversión Alimenticia Aparente (FCR) de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control). 62
- Figura 17 Gráfico de comparación de medias de la Tasa de Eficiencia de utilización de Proteína (PER) de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control). 63
- Figura 18 Medidas descriptivas (promedio, máximo y mínimo) de la sobrevivencia final de juveniles de *Piaractus brachypomus* por cada tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control). 64
- Figura 19 Gráfico de comparación de medias del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la dieta suministrada a juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control). 67
- Figura 20 Gráfico de comparación de medias del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la proteína en la dieta suministrada a juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control). 68
- Figura 21 Gráfico de comparación de medias del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) del extracto etéreo en la dieta suministrada a juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control). 68
- Figura 22 Gráfico de comparación de medias del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de cenizas en la dieta suministrada a juveniles de *Piaractus brachypomus* por 69



tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

- Figura 23 Unidades Formadoras de Colonias (UFC), en diferentes diluciones, de *Lactobacillus* presentes en el estómago de juveniles de *Piaractus brachypomus*, luego de 60 días de suministro de una dieta experimental con probiótico (T1: probiótico 0.05%; T2: probiótico 0.10%; T3: probiótico 0.15% y T7: control). 70
- Figura 24 Unidades Formadoras de Colonias (UFC), en diferentes diluciones, de *Saccharomyces* presentes en el estómago de juveniles de *Piaractus brachypomus*, luego de 60 días de suministro de una dieta experimental con probiótico (T4: levadura 5%; T5: levadura 10%; T6: levadura 15% y T7: control). 71

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Formulario para registro de parámetros físico-químicos (diario y quincenal).	95
Anexo B. Formulario para el registro del alimento consumido diariamente en cada replica y su respectivo tratamiento.	96
Anexo C. Formulario para el registro de peso y talla realizado durante las biometrías quincenales.	97

1. INTRODUCCIÓN

La demanda de peces es cada vez mayor en el mundo y mientras la expansión de la acuicultura continúa, a nivel mundial las pesquerías marinas de captura consideradas en su conjunto parecen haber alcanzado un límite, en muchos casos llegando a extremos de sobreexplotación (FAO, 2007; Ludwig et al., 1993). Por tal motivo, se requiere encontrar nuevas formas de suplir esta necesidad y la acuicultura se constituye en una alternativa clave para superar el déficit de alimento de origen acuático a nivel mundial (Vela y Ojeda, 2007; Muir y Nugent, 1995). Lo anterior ha conducido a que la producción mundial de la acuicultura se haya incrementado significativamente en los últimos años, pasando de 35.5 millones de t en el 2000 a 47.8 millones de t al 2005 (FAO, 2007).

Dentro de los principales organismos cultivados se destacan los peces tanto por cantidades producidas como por ingresos económicos, representado en estos items el 47.4% y 53.9%, respectivamente. Las plantas acuáticas constituyen el segundo sector con 23.4% a nivel de producción, aunque solo un 9.7% en cuanto al monto económico; mientras los moluscos representan el tercer grupo de importancia por cantidad y valor económico aportado 22.3% y 14.2%, respectivamente. Finalmente, los crustáceos son el cuarto grupo a nivel productivo en toneladas (6.2%), ubicándose en el segundo lugar en términos económicos (20.4%) (FAO, 2007).

Colombia no ha sido ajeno al crecimiento de la actividad acuícola continental y marítima, la cual ha despegado notablemente en las últimas dos décadas, pasando de 5623 t en 1989 a 66567 t en 2007 (Barreto y Mosquera, 2001; CCI, 2008). La acuicultura continental en Colombia tiene un crecimiento promedio anual del 4%, siendo la cachama y la tilapia las especies que más se destacan (CCI, 2008).



Planteado este panorama, el reto consiste en acelerar rápidamente el ritmo con el que se pueden minimizar el hambre y la malnutrición, objetivo en el que la acuicultura tiene una importante función que desempeñar en este esfuerzo, proporcionando fuentes ricas en proteínas y aportando ingresos y oportunidades de empleo (FAO, 2003a). Asimismo, uno de los compromisos de la academia en general es buscar soluciones a los problemas de seguridad alimentaria; implementando técnicas que apunten al aprovechamiento integral, racional y sostenible de los recursos, cualquiera sean.

Desde los 70s se vienen realizando diversos estudios referentes a la cachama, principalmente con el fin de introducir esta especie en la ciencia de la piscicultura (Bello y Rivas, 1992; Gutiérrez et al., 1996). Sin embargo, estos estudios no son suficientes para alcanzar niveles productivos competitivos en los mercados internacionales; por lo tanto, es necesario generar investigación en áreas que limitan el proceso de producción y mejoren la competitividad de la cadena piscícola, implementando estudios controlados en condiciones de laboratorio y aplicándolos a medios masivos de producción. Actualmente, la mayoría de las investigaciones dirigidas a los cultivos de cachama se concentran principalmente en incorporar alternativas alimentarias que disminuyan costos de producción.

Otro de los problemas que enfrentan en la actualidad los productores a nivel nacional es el tratamiento de las enfermedades producidas por agentes infecciosos que atacan constantemente los cultivos (Iregui et al., 2004), originados entre otros por un mal balance nutricional y la mayoría de ellos sin posibilidad de tratamiento curativo, generando importantes pérdidas económicas para el productor.

Lo anterior conduce a plantear nuevas estrategias de control sanitario ya que las enfermedades que desarrollan especies como las cachamas involucran episodios de mortalidad, asociados en su mayoría a infecciones micóticas y bacterianas presentes en el agua, y que se pueden atacar implementando



tratamientos preventivos, como el uso de inmunoestimulantes (e.g. probióticos y levaduras).

En la búsqueda de un paquete tecnológico que cumpla estos requisitos, se encontraron reportes de varias investigaciones que han empleado probióticos en algunas especies acuáticas de cultivo, en diferentes etapas de desarrollo, y se han obtenido resultados favorables en el desempeño de los peces al ser desafiados con bacterias patógenas. Algunos de estos resultados muestran una influencia positiva en la condición corporal de los animales.

En este contexto, se llevó a cabo esta investigación cuyo propósito fue evaluar el crecimiento de juveniles de cachama blanca *Piaractus brachypomus*, utilizando diferentes porcentajes de inclusión de probióticos y levadura en una dieta formulada al 32% de proteína, en condiciones de laboratorio.

Esta investigación se desarrolló en el marco del proyecto "Evaluación del crecimiento de cachama blanca, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818) utilizando probióticos", que contó con la financiación de FONCIENCIAS, fondo para el desarrollo de la investigación de la Universidad del Magdalena y la participación del Centro Acuícola y Agroindustrial del Sena de Gaira.



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años, la acuicultura a nivel mundial ha tenido adelantos significativos en cuanto a la producción de una amplia variedad de organismos que proporcionan proteína de origen animal, constituyéndose en una alternativa que contribuya a la seguridad alimentaria, entre estos organismos se cuenta con la cachama blanca *Piaractus brachypomus* especie que se ha adaptado a las condiciones ecológicas de las aguas pertenecientes a las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas, ocupando una amplia distribución geográfica (Pineda-Santis, 2004). En su ambiente natural es una especie omnívora, pero con tendencia a ser frugívora y herbívora; se alimenta de frutos y semillas, fundamentalmente, siguiendo con plantas de arizo y detritos (Arias, 1988b; Díaz y López, 1993).

Por su amplia distribución geográfica, características y comportamiento, las especies del género *Colossoma* y *Piaractus* se han considerado como promisorias para el desarrollo piscícola a escala comercial, no solamente en Colombia sino en países como Brasil, Perú, Venezuela y los de América Central, (Hernández, 1986). Según las estadísticas de producción pesquera en Colombia, con la cachama se viene trabajando en su cultivo hace más de una década, lo que se ha evidenciado en un aumento acelerado de la producción (Barreto y Mosquera, 2001). Sin embargo, a pesar de ser una clara alternativa de la producción básica de alimentos del país, los costos de sostenimiento de estos cultivos son muy elevados, especialmente en la parte alimentaria, haciendo necesario buscar alternativas que disminuyan los costos de producción.

Se han realizado algunos estudios en nutrición con especies del Amazonas, pero son insuficientes y casi todos se han desarrollados en estanques en tierra (Gutiérrez et al., 1996). A nivel comercial, la cachama blanca se cultiva en sistemas extensivos y semiintensivos, donde los requerimientos nutrimentales

son satisfechos mediante dietas artificiales completas (Vásquez-Torres, 2001). La necesidad de aumentar la producción del cultivo con la dificultad de expansión del área cultivada, conduce a operar con altas densidades de siembra y limitada calidad del agua. Bajo estas circunstancias, los organismos se encuentran sujetos a estrés constante que se traduce en bajas tasas de crecimiento y eficiencia alimenticia, así como presencia de enfermedades oportunistas. Para sobrellevar estos problemas, se ha estudiado alternativamente el uso de suplementos alimenticios que eviten la aparición de enfermedades y operan como promotores de crecimiento entre los cuales se encuentran las hormonas, antibióticos, iónoferos y algunas sales, pero su uso indiscriminado puede ocasionar efectos adversos al animal (alteraciones hormonales, intoxicación, predisposición a enfermedades) y residuales para el consumidor final.

Para evitar estos problemas, los estudios se han dirigido a identificar nuevos aditivos como los microorganismos a los que se les ha llamado probióticos, los cuales presentan una opción para mejorar la salud y el crecimiento de los organismos, dando por resultado una mayor producción. Aunque en Colombia son pocos los avances obtenidos en este campo y particularmente con esta especie, es pertinente contar con información disponible sobre este tema para especies neotropicales de aguas dulce y hábitos alimenticios netamente omnívoro como es el caso de *Piaractus brachypomus*.

Basados en estas ventajas, con la inclusión de probióticos en una dieta al 32% de proteína se pretende conocer sus efectos en crecimiento y aprovechamiento del alimento en crías de *Piaractus brachypomus*, cuya información básica generada permitirá aumentar el conocimiento de esta especie; además, desde la perspectiva acuícola se profundizará en el tema de su nutrición con el propósito de obtener mejores resultados. Desde el punto de vista social, económico, ambiental, el manejo apropiado del recurso y la optimización de la técnica del cultivo, los resultados apuntan al aumento de la producción,



brindando la posibilidad de sustento y desarrollo a los asentamientos humanos donde se cultiva esta especie.

Con base en lo anterior se planteó la siguiente pregunta de investigación:
¿Sirven el probiótico Nutribacter® y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como promotores de crecimiento y condición de bienestar en juveniles de *P. brachypomus* y cuál sería el porcentaje optimo de inclusión en la dieta?

3. ESTADO DEL ARTE O ANTECEDENTES

3.1 GENERALIDADES

La acuicultura continúa siendo el sector alimentario de más rápido crecimiento en el mundo, con una producción de 47.8 millones de t anuales; mientras que en 1980 tan sólo el 9% del pescado para el consumo humano procedía de la piscicultura, hoy en día, este porcentaje alcanza el 43%. Su comercio mundial ha alcanzado un nivel récord, con exportaciones por valor de 71.500 millones de dólares americanos, lo que supone un incremento del 23%, respecto al año 2000 (FAO; 2007).

En el mundo se cultivan más de 300 especies de peces utilizando estrategias de alimentación y dietas completas que distan de atender las necesidades de nutrición más precisas que se vean reflejados en un mejor crecimiento (Vásquez-Torres et al., 2002a). Es entonces la piscicultura es el sistema de producción animal que durante los últimos años ha registrado mayor crecimiento; en Colombia, este incremento es particularmente notorio en la región del Piedemonte llanero colombiano (Sastre et al., 2004), donde la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) resulta ser la más cultivada (Hernández et al. 1992; Arias, 1988a).

La cachama blanca es la especie nativa con mayor potencial productivo para la piscicultura de aguas cálidas continentales de América Latina y ello gracias a su eficiente reproducción en condiciones de laboratorio y a su aceptación y adaptación al consumo de alimento concentrado, rusticidad, rápido crecimiento y excelente capacidad de conversión alimenticia (Rodríguez, 1993).

3.2 UBICACIÓN TAXONÓMICA Y MORFOLOGÍA

La cachama blanca es un carácido de la familia *Characidae* que pertenece al genero *Piaractus* (*Eigenmann, 1903*) y corresponde a la especie *Piaractus brachypomus* (*Cuvier, 1818*). Presenta coloración grisácea con reflejos azulosos en el dorso y en los flancos, el abdomen es blanquecino con ligeras manchas anaranjadas (Figura 1). Los juveniles suelen tener un color más claro con tonalidad rojo intensa en la parte anterior del abdomen, en la aleta anal y caudal; posee baja capacidad de filtración por el número de branquiespinas. Logra alcanzar un peso máximo de 20 kg y una longitud de 85 cm; tiene boca terminal con dientes mandibulares, que sirven para triturar las diferentes frutas y semillas que son su alimento en el medio natural; estando su intestino adaptado fisiológicamente para tal fin (*González, 2001*).



Figura 1. Juvenil de cachama blanca *Piaractus brachypomus* (*Cuvier, 1818*).

3.3 BIOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN

El carácido *P. brachypomus* es una especie ampliamente conocida en América del Sur, siendo abundante en las cuencas de los ríos Amazonas, Paraná-Paraguay y Orinoco, (*Machado-Allison, 1982; Martins de Proenca y Leal, 1994*). Se desarrolla en aguas con temperaturas de $26\pm 1.2^{\circ}\text{C}$, pH de 7.3 ± 0.2 , dureza >40 ppm y concentración de nitritos y amonio <0.02 ppm. (*Arias y Vásquez-Torres, 1988*). Sus hábitos alimenticios naturales son omnívoros, con

tendencia a frugívoros – herbívoros; su alimentación se basa principalmente en frutas y semillas, partes de macrófitas acuáticas, organismos zoo planctónicos grandes, moluscos, crustáceos y larvas de insectos (Arias, 1988b; Díaz y López, 1993). Los machos adultos de *P. brachypomus* aptos para reproducción tardan 3 años y las hembras 4 años con pesos de 3 a 4 Kg. en adelante (González, 2001).

3.4 PROBIÓTICOS

El uso de probióticos data desde antes de la era cristiana, casi podría decirse que se inició desde que los humanos empezaron a consumir las leches fermentadas. A lo largo del tiempo, se han venido empleando en la alimentación de diferentes especies y se han descubierto diferentes microorganismos que actúan como potenciales cepas probióticas, muchas de ellas no provienen de los productos lácteos (Rodríguez, 2005).

3.4.1 Definición

El descubrimiento de los probióticos inició con la teoría de Metchnikoff, quien proponía que la longevidad de los campesinos búlgaros se debía al consumo de leches fermentadas, pues consideraba que al ingerir los bacilos fermentadores, éstos influenciaban positivamente la microflora intestinal, disminuyendo así las actividades microbianas tóxicas. Estas “influencias positivas” fueron definidas por primera vez por Lilley y Stillwell (1965) como “sustancias secretadas por un microorganismo que estimulan el crecimiento de otros (Ringø y Gatesoupe, 1998; Chukeatirote, 2003). Parker (1974) introdujo el término “probiótico” (gr. *Pro*: a favor de, *Bios*: vida), definiéndolo como “Organismos y sustancias que contribuyen al equilibrio microbiológico del intestino”.

Desde entonces, el concepto de probiótico ha ido cambiando y en razón a que en la mayoría de los casos no se ha demostrado el equilibrio microbiológico

intestinal, se habla de probiótico como “microorganismos celulares administrados de forma que ingresen al tracto gastrointestinal y se mantengan vivos, con el propósito de mejorar la salud” (Gatesoupe, 1999).

3.4.2 Mecanismo de acción

Para comprender un poco los mecanismos de acción de los microorganismos probióticos, es necesario aclarar que la microflora intestinal de un huésped está compuesta por agentes patógenos y benéficos, los cuales normalmente se encuentran en equilibrio, formando una compleja simbiosis que puede verse afectada por enfermedades, estrés, cambios en la dieta, entre otros.

Los probióticos actúan regulando ese equilibrio microbiológico dentro del huésped o en el ecosistema, como es el caso de los peces. Las múltiples formas en que ejercen su efecto no son completamente claras, muchas dependen de las características de cada especie, la habilidad intrínseca de las cepas probióticas para influenciar positivamente el ambiente del huésped y su capacidad para alcanzar y mantenerse en la ubicación específica donde puede actuar.

Los mecanismos de acción que las diferentes bacterias utilizan pueden ser multifactoriales (Verschuere et al, 2000):

- Producción de sustancias inhibitorias: incluye antibióticos, bacteriocinas, sideróforos, lisozimas, proteasas, peróxido de hidrógeno y la alteración del pH por la producción de ácidos orgánicos. Estas sustancias pueden ejercer un efecto bactericida o bacteriostático sobre otras poblaciones bacterianas.

- Competencia por nutrientes esenciales, en especial el hierro: algunas producen sideróforos, que pueden disolver el hierro precipitado y hacerlo disponible para su crecimiento, privando otras bacterias, especialmente especies patógenas, cuyos requerimientos de este elemento son altos.

- Competencia por energía disponible, en especial las fuentes de carbono y energía.

- Competencia por sitios de adhesión: se considera como el primer efecto probiótico de las cepas, ya que bloquean los receptores de adhesión, favoreciendo la colonización de las superficies mucosas y asegurando su permanencia. De esta forma, se brinda un medio propicio para realizar otros mecanismos de acción en contra de microorganismos patógenos (Scherezenmeir y Vrese, 2001).

- Mejoramiento de la respuesta inmune: se cree que los probióticos pueden influenciar el sistema inmune de diversas formas, como el aumento de las propiedades defensivas de la mucosa intestinal, actuando como una barrera frente a los antígenos; otras cepas pueden estimular componentes no específicos del sistema inmune (Verschuere et al, 2000).

- Mejoramiento de la calidad de agua: disminuyen concentraciones de sustancias tóxicas para los peces, como amoníaco y nitrito, y eliminan de forma directa la materia orgánica.

- Pueden ser fuente de macro o micronutrientes o suministrar enzimas que contribuyan a la digestión (Verschuere et al, 2000).

Muchos de estos mecanismos son posibles hipotéticamente y están expuestos a verificación. Otros se han comprobado en ensayos *in-vitro*, pero es necesario que se realicen ensayos *in-vivo*, para demostrar su viabilidad como cepas probióticas.



3.4.3 Empleo de los probióticos en diferentes organismos

El empleo de probióticos no se ha limitado a uso en los humanos, sino que también se han utilizado en aves de corral, rumiantes, porcinos, peces, entre otros. Los microorganismos utilizados como probióticos en la alimentación son principalmente cepas bacterianas pertenecientes a diferentes géneros como *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* y *Bacillus*. Otros microorganismos que se han incluido son algunos hongos microscópicos como levaduras de tipo *Saccharomyces*. Algunos de estos son residentes normales del tracto digestivo, mientras que otros no.

A continuación se presenta una breve descripción de algunos resultados del empleo de los probióticos en diferentes organismos.

3.4.3.1 Humanos. El empleo de probióticos en humanos ha ido avanzando a lo largo de los años. Inicialmente, sólo se limitaba al uso de bacterias provenientes de productos lácteos, pero con el tiempo se fueron incluyendo otro tipo de bacterias, unas residentes normales del tracto digestivo y cepas foráneas. En la Tabla 1 se incluyen algunas cepas empleadas frente a diferentes enfermedades y el efecto posterior.

Se ha investigado con otras cepas en el tratamiento de enfermedades como enteritis crónicas, cáncer colono-rectal, síndrome de intestino irritable, algunas alergias, ciertas infecciones virales, colitis ulcerativa, entre otras. Los efectos incluyen reducción de los síntomas, estímulo de la respuesta inmune, regulación de mediadores de inflamación, depresión en la producción de enzimas perjudiciales en el colon y modulación de la micro flora intestinal. Se han encontrado otros efectos como la prevención de diferentes tipos de cáncer y la reducción de los niveles de colesterol sanguíneo (Tuohy et al ,2003).

Tabla 1. Algunos probióticos utilizados en el tratamiento o prevención de enfermedades en humanos.

Enfermedad	Bacterias utilizadas	Efecto post-tratamiento	Fuente
Intolerancia a la lactosa	Bacterias del ácido láctico	Producción de lactasa, desaparición de los síntomas.	Tuohy K.M. et al. 2003.
Diarrea aguda infantil, por rotavirus	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	El efecto no es muy claro, puede incluir fortificación de la integridad de la mucosa y/o estímulo del sistema inmune. Reducción del tiempo de enfermedad hasta un 50%. Reducción en la incidencia de la enfermedad.	Tuohy K.M. et al. 2003
Diarrea asociada a antibióticos	<i>Bifidobacterium bifidum</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium longum</i>	Disminuye la duración de diarrea inducida por eritromicina.	Tuohy K.M. et al. 2003
	<i>B. longum</i> y <i>L. acidophilus</i>	Disminuye la incidencia de diarrea inducida por clindamicina.	
	<i>L. acidophilus</i> y <i>L. bulgaricus</i>	Disminuye la incidencia de diarrea inducida por ampicilina.	
	<i>L. rhamnosus</i> GG	Disminuye la duración de diarrea inducida por eritromicina	
	<i>Enterococcus faecium</i>	Disminuye la incidencia de diarrea inducida por quimioterapia antituberculosa.	
	<i>Ent. faecium</i>	Disminuye la incidencia de diarrea	
	<i>Streptococcus boulardi</i>	Disminuye la incidencia de diarrea debida a β -lactámicos o tetraciclinas.	
Colitis por <i>Clostridium difficile</i>	<i>L. rhamnosus</i> GG	Mejora / finalización de la enfermedad. Erradica diarrea asociada a <i>C. difficile</i> .	Tuohy K.M. et al. 2003
Diarrea de viajero	<i>Saccharomyces boulardi</i> <i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> GG <i>S. boulardii</i>	Disminuyen la frecuencia, pero no la duración de diarrea. Disminuye la incidencia de la enfermedad	Merceiner et al. 2002 Tuohy K.M. et al. 2003
Infección por <i>Helicobacter pylori</i>	Varias especies de <i>Lactobacillus</i> y <i>Lactococcus lactis</i>	Disminuye la incidencia de la enfermedad Inhiben el crecimiento de <i>H. pylori</i> (in- vitro). Reducción de la actividad de la ureasa en pacientes tratados.	Merceiner et al. 2002

3.4.3.2 Animales domésticos. En la actualidad se ha incrementado el empleo de probióticos en animales domésticos. Las cepas más utilizadas en la alimentación son principalmente especies de tipo *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* y *Bacillus*, y cepas de levaduras microscópicas como *S. cerevisiae*, mostrando efectos benéficos en la tasa de crecimiento, conversión alimenticia y resistencia a las enfermedades. Es por esto que los probióticos se están usando como promotores de crecimiento (en lugar de sustancias químicas como antibióticos).

Estos productos se han aplicado en varias especies con resultados favorables. En ratones de laboratorio se ha ensayado con cepas de *Lactobacillus*, que al parecer, estimulan el sistema inmune frente a bacterias como *Salmonella typhimurium* (Ringø y Gatesoupe, 1998).



El empleo de probióticos en pollos bajo condiciones de estrés favorece el desempeño de los animales. La utilización de cepas de *Bacillus* frente a enfermedades producidas por parásitos como *Eimeria tenella* asociadas a *Salmonella*, presentó disminución en los síntomas clínicos con un mejor crecimiento, frente a un grupo testigo (Guillot, 1993).

Esporas de *Bacillus* y *Saccharomyces cerevisiae*, fueron incluidas en la dieta de conejos con el propósito de combatir los frecuentes desórdenes digestivos, problema común en la cría de esta especie. En este caso se evidenció aumento en el crecimiento y una mejor tasa de conversión alimenticia.

También existen estudios en terneros con adición de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus ciriae* y varias especies de *Lactobacillus* y *Enterococcus faecium*. Los resultados incluyen aumento en el consumo de alimentos, ganancia de peso, destetes más tempranos, menor necesidad de desparasitantes, reducción en los recuentos de coliformes fecales y menor demanda de tratamientos antibióticos (Nikoskelainen et al., 2001; Chukeatirote, 2003; Balcazar, 2002).

3.4.3.3 Uso en la acuicultura. La producción de organismos acuícolas constituye una de las principales fuentes de alimento y trabajo en los países que se dedican a esta actividad. Sin embargo, la presencia de enfermedades ha limitado el desarrollo de la acuicultura afectando al sector económico y social de muchos países. A medida que se han desarrollado métodos intensivos de producción ha aumentado la incidencia de enfermedades, ya que la utilización de densidades altas crea situaciones de estrés que propician el establecimiento de patógenos oportunistas (Balcazar, 2002; Verschuer, 2000).

Estos problemas se han vuelto muy comunes, incrementando la incidencia de enfermedades con grandes pérdidas de producción hasta del 100% en larvicultura, lo cual genera un incremento en el costo de los tratamientos y en el control de microorganismos, que en ocasiones son empleados erróneamente,

trayendo así consecuencias perjudiciales, como la formación de bacterias resistentes a los productos antibióticos, haciendo aún más difícil su control.

Lo anterior ha impulsado a la empresa acuícola a diseñar estrategias de control ambientalmente seguras y a un menor costo, orientadas al uso de técnicas mejoradas como programas de selección genética y aplicación de sustancias inmunoestimulantes (como β -glucanos, peptidoglucanos y lipopolisacáridos), con el fin de mejorar el rendimiento, la prevención y la resistencia a enfermedades de origen viral o bacteriano.

Los probióticos brindan una alternativa para el control de microorganismos en la producción acuícola, debido a que los organismos acuáticos constantemente están ingiriendo microorganismos los cuales, según su concentración dentro del ecosistema, pueden influenciar su estado de salud.

Este efecto es más notorio en las etapas tempranas del desarrollo de los organismos acuáticos, pues se enfrentan a su medio ambiente sin haber alcanzado un desarrollo completo, por lo que empiezan a alimentarse con su tracto digestivo y sistema inmune inmaduro, siendo más vulnerables a desórdenes gastrointestinales asociados a microorganismos que producen grandes mortalidades y pérdidas en estas etapas (larvicultura y alevinaje). Es entonces, cuando resulta favorable el empleo de probióticos porque contribuyen al establecimiento temprano de una microflora benéfica en el intestino del huésped que actúa como una barrera frente a posibles patógenos invasores.

Los primeros probióticos empleados en acuicultura fueron productos diseñados para animales terrestres compuestos por cepas de diferentes géneros, entre ellos *Bacillus*, *Streptococcus* y bacterias ácido-lácticas. Esto reveló la importancia de emplear dichos aditivos en la alimentación de los peces con el fin de controlar las poblaciones bacterianas dentro de los estanques.



Los ensayos han estimulado la búsqueda de bacterias con propiedades probióticas que sean residentes normales de la microflora de los organismos acuáticos, con lo que se espera asegurar la permanencia de estas cepas en las diferentes superficies mucosas del huésped, constituyendo una barrera de protección en órganos como piel, branquias y tracto gastro-intestinal (Balcazar, 2002). En la Tabla 2 presenta un resumen de algunos reportes de usos de probióticos.

En acuicultura, el uso de quimioterapéuticos era el único método practicado para el manejo de poblaciones bacterianas indeseables; sin embargo, la inadecuada aplicación de estos, fue creando resistencia entre las bacterias, por lo cual se ha venido ensayando con otras alternativas de control de enfermedades, destacándose la prevención. Bajo este principio y aprovechando los mecanismos de exclusión competitiva ha surgido el empleo de microorganismos benéficos llamados “probióticos” como control biológico en la prevención de ataques bacterianos (Balcazar, 2002).

Rodríguez et al. (2005) evaluaron el crecimiento de juveniles de *Ariopsis bonillai* con el empleo de dos tipos de probióticos: uno para vacunos y otro para peces Renascitur BLCS® y Renascitur GREEN®, respectivamente. Los mejores resultados en cuanto a incremento en peso y bienestar se obtuvieron con el probiótico Renascitur BLCS®.

Han sido empleados probióticos como Nutribacter con excelentes resultados en rumiantes, porcinos, bovinos y aves. Nutribacter® es un producto recomendado para uso en aves, porcinos y bovinos. El uso de probióticos en estos animales favorece la proliferación de microorganismos efectivos en el rumen y así mejorar la digestibilidad, inhibir la proliferación de bacterias potencialmente patógenas, al igual que la producción de sustancias tóxicas, como amonio y sulfito de hidrógeno (Prescott et al., 1999; Madigan et al., 1999).

NutriBacter® está formulado con diferentes tipos de bacterias que favorecen el crecimiento desarrollo y vigor de los animales, principalmente se constituye de *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Sacharomyces* sp., *Bifidobacterium* sp.

Tabla 2. Revisión de algunos reportes de probióticos como agentes de control biológico en acuicultura.

Probiótico	Origen	Observaciones	Método de administración	Mecanismo de acción sugerido
Huevos y larvas de peces				
Varias cepas (no identificadas)	Huevos de bacalao y halibut Peces	Falla de las cepas para prevenir la adhesión de bacterias del ambiente a los huevos.	Baño en una suspensión de bacterias.	Antagonismo
<i>Vibrio salmonicida</i> y <i>L. plantarum</i>	-	Aumento de la supervivencia de larvas de halibut, 2 semanas después de la incubación.	Agregado al agua del cultivo.	Inmunoestimulación
<i>Bacillus</i> , cepa IP5832	-	Aumento del peso de larvas de rodaballo al ser alimentadas con rotíferos; disminución de mortalidad al ser desafiados con un oportunista de tipo <i>Vibrionaceae</i> .	Agregados a la dieta de los rotíferos.	Antagonismo y/o aumento del valor nutricional de los rotíferos.
<i>Str. lactis</i> y <i>L. bulgaricus</i>	Rotíferos (<i>B. plicatilis</i>)	Aumento en la supervivencia de larvas de rodaballo 17 días luego de la incubación.	Enriquecimiento de rotíferos y artemia.	-
<i>Lactobacillus o carnobacterium</i>	L de rodaballo alimentadas con copépodos	Disminución de la mortalidad de larvas de rodaballo desafiadas con <i>Vibrio</i> sp. Patógeno.	Enriquecimiento de rotíferos.	Antagonismo y/o ↑ del valor nutricional de los rotíferos.
<i>Vibrio pelagius</i>	-	Disminución de la mortalidad de larvas de rodaballo desafiadas con <i>A. caviae</i> .	Agregado al agua de cultivo.	-
Cepa E (<i>Vibrio alginolyticus</i>)	Larvas de rodaballo saludables	Disminución de la mortalidad de larvas de rodaballo desafiadas con una cepa P de <i>Vibrio</i> patógeno; adicionalmente hubo un incremento en la tasa de crecimiento.	Enriquecimiento de rotíferos.	Competencia por hierro.
Agua madurada	-	Aumento de la tasa inicial de crecimiento de larvas de rodaballo y halibut.	Como agua de cultivo.	-
Juveniles y peces adultos				
<i>Camobacterium divergens</i> (liofilizado)	Intestino de salmón	Incremento en la mortalidad de alevinos de salmón desafiados con cohabitantes infectados con <i>A. salmonicida</i> .	Incluido en la dieta	-
<i>Camobacterium divergens</i> (liofilizado)	Intestino de salmón	Disminución de la mortalidad de alevinos de bacalao al ser desafiados con una cepa patógena de <i>V. anguillarum</i> .	Incluido en la dieta	-
<i>Camobacterium divergens</i> (liofilizado)	Intestino de salmón	Disminución de la mortalidad de alevinos de bacalao desafiados con una cepa patógena de <i>V. anguillarum</i> 12 días después de la infección. 4 semanas después de la infección, sin embargo, se alcanzó una mortalidad igual al control.	Incluido en la dieta	Antagonismo.
<i>Camobacterium</i> cepa K1	Intestino de salmón	Inhibición del crecimiento de <i>V. anguillarum</i> y <i>A. salmonicida</i> en mucus intestinal y extractos fecales de peces (solo in-vitro)	-	Antagonismo.
<i>Camobacterium</i>	Intestino de salmón	Inhibición del crecimiento de <i>V. anguillarum</i> en extractos fecales de rodaballo (no realizado in-vivo)	-	Antagonismo.

Fuente: Verschuere et al. (2000)

Otro objetivo de administrar probióticos es establecer una microbiota intestinal favorable antes de que los microorganismos generadores de enfermedades puedan colonizar los intestinos. Tal es el caso de las bacterias productoras de ácido láctico, que inhibe la proliferación de muchas bacterias potencialmente patógenas o no deseables en el intestino.

En el caso de las levaduras, el empleo de *Saccharomyces* como probiótico, ha mostrado aumento en la supervivencia en casi el 90% de los reportes. Evidencias indican que estimula el sistema inmune de los huéspedes y, en este proceso, se cree que están involucrados algunos componentes de su pared celular (Scholz et al., 1999).

En la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) se estudiaron diferentes niveles de inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* obteniendo que los mejores resultados se presentaron en los niveles de 5%, 10% y 15%. Alimentos con porcentajes más altos no fueron consumidos debido a problemas de palatabilidad, registrando un pobre desempeño en el crecimiento; también recomiendan utilizar en especies preferiblemente herbívora/omnívora como cachamas (Almeida et al., 2003).

3.4.4 Productos empleados en esta investigación

En esta investigación se utilizaron dos mezclas probióticas: Nutribacter®, producto recomendado para uso en rumiantes, porcinos, bovinos y aves; y *Saccharomyces cerevisiae* deshidratada empleada para agregar al alimento en los cultivos acuícolas (Figura 2)

Según los productores del alimento (Fungicol), con el empleo de este insumo se esperarían los siguientes efectos:

- Flora intestinal saludable.
- Aumento en la eficiencia en la conversión alimenticia de los animales cultivados.

- Aumento del brillo y color del cuerpo de los animales cultivados.
- Aumento en la resistencia frente al estrés de los animales cultivados.
- Aumento de la respuesta inmune de los animales frente a enfermedades infecciosas.
- Agua en condiciones estables y favorables.
- Disminución en la materia orgánica disuelta y en la demanda bioquímica de oxígeno.
- Disminución de la concentración de sustancias tóxicas como amonio, nitritos y sulfito de hidrógeno.
- Inhibición en la proliferación de bacterias oportunistas, virus y parásitos de tipo protozoos.
- Mejor crecimiento y supervivencia.



Figura 2. Presentación comercial del Probiótico Nutribacter® y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* utilizados en la investigación.

Los fabricantes recomiendan su aplicación en los estanques antes de la siembra de los animales, a una dosis de 20 a 30 kg/ha. También se puede emplear durante el cultivo, aplicándolo cada 14 días al agua con el fin de mantener las condiciones del agua y sostener una dominancia de los microorganismos benéficos.

Los géneros a los que pertenecen las bacterias probióticas que componen estos estimuladores de crecimiento serán brevemente descritos a continuación.

3.4.4.1 Lactobacillus. Pertenecen al grupo de bacterias conocidas como “bacterias del ácido láctico”, resultado principal o único de su metabolismo fermentativo y en su mayoría son anaerobios facultativos. Típicamente bacilares, variando desde bacilos largos y delgados a cortos y curvados; no esporulados, habitualmente inmóviles, grampositivos, mesófilos y comprenden especies homofermentativas en su mayor parte, aunque algunas son heterofermentativas. Este género ha sido dividido en 3 subgrupos principales y se han reconocido más de 70 especies.

Normalmente, los *lactobacilos* se encuentran en lácteos y algunas cepas se utilizan en la preparación de alimentos fermentados derivados de la leche; además, son también parte de la micro flora normal del cuerpo humano: en la boca, tracto digestivo y vagina. Los *lactobacilos* resisten mejor las condiciones de acidez que las restantes bacterias del ácido láctico; pueden crecer bien a un pH alrededor de 4 ó 5. Es importante resaltar que estos microorganismos casi nunca son patógenos, cualidad bastante favorable en su selección como cepas probióticas.

3.4.4.2 Bacillus. Es el mayor representante del orden *Bacillales*. Contiene bacilos gram-positivos, formadores de endosporas, quimioheterótrofos, normalmente móviles y rodeados de flagelos peritricos. Aerobios, aunque a veces pueden ser facultativos y catalasa positivos.

Muchas especies de *Bacillus* poseen importancia; varios de ellos elaboran antibióticos como bacitracina, gramicidina y polimixina; otras especies se utilizadas como insecticidas. Algunos patógenos como *B. cereus*, que inducen algunas formas de intoxicación alimentaria y *B. anthracis*, el agente que ocasiona el carbunco que afecta animales y seres humanos.

Los *Bacillus* suelen crecer bien en medios sintéticos que contengan azúcares, ácidos orgánicos, alcoholes, etc., como única fuente de carbono; y amoniac



como único aporte de nitrógeno. Estos se pueden aislar fácilmente del suelo o de partículas de polvo en suspensión.

Una cualidad favorable de estas bacterias para su selección como probióticos, especialmente en acuicultura, es su eficiencia en degradar materia orgánica a CO₂, transformando un gran porcentaje de carbono orgánico en biomasa bacteriana o limo. Esto ayuda a estabilizar el fitoplancton dentro de los estanques, debido al aumento en la producción de CO₂. En la Tabla 3 se presentan algunas características de ciertas especies del género *Bacillus*.

Tabla 3. Características de las especies representativas del género *Bacillus* y posición de la espora.

Características	Especies	Posición de la espora
I. Esporas ovaladas o cilíndricas, aerobios facultativos, hidrolizan caseína y almidón; esporangios no inflados, esporas de pared delgada	<i>B. coagulans</i>	Central o
Termófilos y acidófilos	<i>B. acidocaldarius</i>	Terminal
Mesófilos	<i>B. licheniformis</i>	Central
	<i>B. cereus</i>	Central
	<i>B. anthracis</i>	Central
	<i>B. megaterium</i>	Central
	<i>B. subtilis</i>	Central
Patógenos de insectos	<i>B. thuringiensis</i>	Central
Esporangios claramente inflados, pared de esporas gruesa	<i>B. stearothermophilus</i>	Terminal
Termófilos	<i>B. polymyxa</i>	Terminal
Mesófilos	<i>B. macerans</i>	Terminal
	<i>B. circulans</i>	Central o
Patógenos de insectos	<i>B. larvae</i>	Central o
	<i>B. popilliae</i>	Terminal
II. Esporas esféricas, aerobios obligados, no hidrolizan ni caseína ni almidón.		
Esporangios inflados	<i>B. sphaericus</i>	Terminal
Esporangios no inflados	<i>B. pasteurii</i>	Terminal

Fuente: Madigan et al. (1999).

3.4.4.3 Bacterias nitrificantes. Reciben este nombre porque pueden crecer quimiolitotróficamente a expensas de compuestos reducidos de nitrógeno, lo que las hace ecológicamente muy importantes. Dentro de este término se pueden encontrar dos grupos (ya que no se conoce ninguna especie de esta agrupación que realice la oxidación completa de amoníaco a nitrato): bacterias

oxidantes de amoníaco, que generan nitritos; y bacterias oxidantes de nitrato que son las formadoras de nitrato a partir de nitrito.

En la Tabla 4 se describen algunas características generales de los dos grupos de bacterias nitrificantes y sus hábitats comunes.

Tabla 4. Características generales de las bacterias nitrificantes.

Características	Género	Hábitats
Oxidadores de amonio:		
Bacilos de largos a cortos gram-negativos, móviles (flagelos polares) o inmóviles; con sistemas de membranas periféricas.	<i>Nitrosomonas</i>	Suelo, aguas residuales, agua de mar.
Cocos grandes, móviles; con membranas vesiculares o periféricas.	<i>Nitrosococcus</i>	Agua dulce, agua de mar
Espirales, móviles (flagelos periféricos); sistema de membranas no obvio.	<i>Nitrospira</i>	Suelo
Pleomórficos lobulares, células compartimentadas; móviles (flagelos periféricos).	<i>Nitrosolobus</i>	Suelo
Finos, bacilos curvados.	<i>Nitrosovibrio</i>	Suelo
Oxidadores de nitrito:		
Bacilos cortos, se reproducen por gemación, ocasionalmente móviles (flagelo único subterminal); sistema de membranas organizado como una capa polar.	<i>Nitrobacter</i>	Suelo, agua dulce, agua de mar
Bacilos largos y finos, inmóviles; sistema de membranas no obvio.	<i>Nitrospina</i>	Agua de mar
Cocos grandes, móviles (uno o dos flagelos terminales); sistema de membranas organizados al azar en tubos.	<i>Nitrococcus</i>	Agua de mar
Células helcoidales a vibrioides, inmóviles; sin membranas internas.	<i>Nitrospira</i>	Agua de mar

Fuente: Madigan et al. (1999).

En general, las bacterias nitrificantes pueden presentar forma de bacilos, elipsoidales, esféricas, espirales o lobuladas y algunas pueden poseer flagelos. Están ampliamente distribuidas en los suelos y el agua. Se encuentran en gran cantidad en hábitats abundantes en amoníaco, como los lugares donde se produce una intensa descomposición proteica. Se desarrollan muy bien en lagos y en corrientes de aguas que reciben aportes de aguas residuales no depuradas, ya que los efluentes suelen ser ricos en amoníaco.

Su participación en la oxidación del amoníaco a nitrito y de éste a nitrato, es una cualidad favorable en el empleo de estas bacterias como probióticos en la producción acuícola ya que la intoxicación por amoníaco o nitrito es un problema común en el cultivo de peces (Verschuere, 2000).

3.4.4.4 *Saccharomyces*. Pertenecen a las levaduras. Hongos unicelulares, normalmente son células ovales o cilíndricas y su división es por gemación; no desarrollan un micelio, sino que permanecen en estado unicelular durante todo el ciclo de crecimiento. La levadura *S. cerevisiae* es capaz de formar micelio bajo ciertas condiciones.

A diferencia de las bacterias, las células de las levaduras presentan organelos como el núcleo y estructuras membranosas internas independientes de la membrana plasmática. Las levaduras prosperan normalmente en ambientes abundantes en azúcares, algunas de ellas viven en simbiosis con animales, en especial insectos, y sólo algunas son patógenas para animales y el hombre.

Las levaduras más importantes desde el punto de vista comercial son las cepas cerveceras y panaderas de la especie *Saccharomyces cerevisiae* que, a su vez, es el hongo más conocido y fácilmente manipulable para su empleo industrial. Además, desde que se conocen sus componentes como selenio orgánico, vanadio, vitaminas, enzimas, manoproteínas y glucanos se ha utilizado a manera de suplemento en la dieta de pacientes en tratamiento médico. Esta levadura también se ha empleado como aditivo alimenticio en la cría de animales, con el fin de mejorar la digestibilidad de los alimentos y la producción (Byoung, 2003).

El empleo de *Saccharomyces* como probióticos, ha mostrado aumento en la supervivencia en casi el 90% de los reportes y evidencias indican que estimula el sistema inmune de los huéspedes. En este proceso se cree que están involucrados algunos componentes de su pared celular (manoproteínas y glucanos). Se ha sugerido su empleo como probiótico en maricultura, ya que tiene la capacidad de adaptarse a altas salinidades (Scholz, 1999).



3.5 DIGESTIBILIDAD

La digestibilidad está definida como la diferencia entre la cantidad de alimento ingerido y la cantidad de alimento que se encuentra en las heces (Bateman, 1970). Este término implica digestión y absorción (Crampton y Harris, 1979).

Después de la digestión, la absorción del alimento constituye la disponibilidad de energía que un pez puede tener. El metabolismo supondrá una pérdida de energía, la cual puede ser eliminada por la materia fecal, orina y branquias. El valor nutritivo de un alimento depende no sólo de su contenido de nutrientes, sino de la capacidad del pez para digerir y absorber esos nutrientes. El cálculo de esta digestibilidad puede determinarse llevando un control preciso de la cantidad de nutrientes ingeridos y eliminados por las excretas. Por tanto, la digestibilidad representa una excelente medida de la calidad para cuantificar el valor nutricional de los ingredientes utilizados en una dieta, puesto que no es suficiente con que los elementos dietarios se encuentren en altos porcentajes en el alimento, sino que deben ser digeribles para que puedan ser asimilados (CAICYT, 1987).

En estudios sobre la digestibilidad de nutrientes en el alimento se debe tener en cuenta que el valor nutricional del mismo no sólo se basa en su composición química, sino en otros factores como la capacidad de la especie en digerirla (Saldaña y López, 1998). La determinación de la digestibilidad de los alimentos, principalmente de la energía y proteína, es la forma más apropiada para verificar el aprovechamiento del alimento (Torres y Uribe, 1995).

Cuando se conocen la digestibilidad de las fuentes esenciales en las dietas prácticas para peces se tienen la oportunidad de sustituirlas en una dieta control o de prueba. Estas sustituciones son importantes para la obtención de dietas de mínimo costo dependiendo del precio del mercado, la disponibilidad y la composición. (Cantelmo, 1989).

3.5.1 Factores que afectan la digestibilidad

Según Quintero y Cortes (1991), la digestibilidad de los alimentos depende de:

- La composición química del alimento. Cualquier materia prima puede ser una excelente fuente de nutriente. Pero será de poco valor real a menos que pueda ser utilizada por el animal (Hossain y Jauncey, 1989). El análisis químico y la determinación de la digestibilidad permiten una estimación del valor nutritivo de una dieta completa para peces (Plakas y Katayama, 1981). En particular la digestibilidad de la proteína depende, en gran parte, del nivel de ésta presente en el alimento (McDonald et al., 1975; Cho, 1987).

- La composición de la ración. El valor de la digestibilidad es afectada por la proporción de cada uno de los ingredientes presentes en la ración y sus interacciones (McDonald, 1975; Cho et al., 1985).

- Los factores inherentes al animal. Hay poca información disponible acerca de la habilidad de varias especies de peces para dirigir y utilizar los nutrientes de un alimento (Smith, 1979). Los peces presentan diferentes capacidades digestivas. La tasa de alimentación es propia de cada especie y esta relacionada con el índice de conversión y consumo de oxígeno (Steffens, 1987).

- El nivel de ingestión. En general, los animales con un sólo estómago tienen limitada habilidad para utilizar algunos nutrientes. Tal es el caso de los peces, los cuales tienen un sistema digestivo que en términos de capacidad es pequeño y esto sumado al corto tiempo de retención del alimento y factores como la baja temperatura, ayuda a que el pez ajuste su ingesta dietaría o acalórica a los niveles necesarios para mantener su tasa metabólica, permitiendo una pequeña oportunidad para la acción digestiva y su absorción (Smith, 1979).

El aumento de la cantidad de alimento ingerido por el pez acelera también la velocidad del paso del mismo en el sistema digestivo haciendo que el tiempo de retención y exposición a la acción de las enzimas del sistema digestivo sea menor, lo que afecta la digestibilidad del alimento. Sin embargo, Cho (1979) sugiere que la medida de los valores de la digestibilidad no parecen estar influenciados por niveles de alimentación superior al nivel de mantenimiento o por cualquier otro valor ambiental.

3.5.2 Medidas de la digestibilidad

La importancia de los valores de la digestibilidad de los alimentos radica en que es el factor de mayor variabilidad en el proceso de utilización; además, que la digestión incompleta representa la mayoría de nutrientes perdidos en las heces (Crampton, 1979).

Básicamente, los ensayos de utilización digestiva y los correspondientes coeficientes de digestibilidad implican un estricto control de la cantidad de nutrientes ingeridos y eliminados como materia fecal. El método más seguro para medir el valor nutritivo de los alimentos en peces, es un sistema de alimentación a largo plazo (Eid y Matty, 1989), pero este método es muy lento y costoso. Sin embargo, la digestibilidad se puede estimar de los valores promedio, o sea, medir directamente por recolecciones cuantitativas de excretas (Tunison et al., 1943; Post, 1965; Ogino, 1973) o indirectamente con el uso de algún marcador no digerible en el alimento (Nose, 1960; Windell, 1978; Smith, 1971; Cho, 1975, 1982).

Ambos métodos deben dar el mismo resultado si se aplican con precisión. Estos no solamente son más rápidos y menos costosos, sino que también permiten estimaciones y observaciones muy aproximadas usando sólo pequeñas cantidades de materiales.



Por la dificultad de cuantificar tanto el alimento que consume el pez, como las heces evaluadas, la técnica más acertada es la del método indirecto con el uso de marcador o indicador inerte (Jobling, 1983; De la Higuera, 1987). La incorporación de materiales en el alimento es cuestionada, especialmente cuando la recuperación cuantitativa de dicho material no ocurre. Es un problema que se presenta en los estudios de nutrición realizados en peces (Fromm y Stokes, 1962; Foldz, 1979).

Son muchas las sustancias que han sido utilizadas como marcadores en las investigaciones de nutrición animal como los óxidos metálicos (Cr_2O_5), sales minerales (Ba_2O_4), sustancias radiactivas ($^{51}\text{Cr}_2\text{O}_5$) y componente naturales de los alimentos como la lignina Kotb y Luckey, (1972). Sin embargo, el óxido de cromo es la sustancia inerte que más se usa en los estudios de nutrición en peces (Jobling, 1983; Law, 1985; Quintero y Cortes, 1991; Buzeta y Reyes, 1993; López, 1994; Torres y Uribe, 1995; Vásquez-Torres, 2001) entre otros, han trabajado usando el óxido de cromo como marcador inerte.

El método de óxido de cromo fue desarrollado por Edin, 1918; (En: Quintero y Cortes, 1991). Sin embargo, Austreng (1978) determinó su viabilidad para estudios específicos de nutrición en peces ya que cumplían los requerimientos necesarios para la cuantificación y métodos precisos y tener las propiedades físico químicas que permiten discernir después de pasado el proceso digestivo.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el crecimiento de juveniles de cachama blanca *Piaractus brachypomus*, utilizando diferentes porcentajes de inclusión de probiótico y levadura en una dieta formulada al 32% de proteína, en condiciones de laboratorio.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la ganancia en peso y el incremento en talla de juveniles de cachama blanca *P. brachypomus*, mediante el suministro de una dieta al 32% de proteína con la adición del probiótico Nutribacter® (0.05, 0.10 y 0.15%) y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (5, 10 y 15%).
- Comparar el consumo de alimento, la tasa de conversión alimenticia aparente (FCR) y la tasa específica de crecimiento (SGR) de juveniles de *P. brachypomus* en los diferentes tratamientos.
- Estimar la digestibilidad aparente de la proteína en la dieta con diferentes niveles de inclusión de probiótico y levadura.
- Comparar el porcentaje de sobrevivencia en cada tratamiento, durante el tiempo de evaluación.
- Comprobar la presencia del Probiótico Nutribacter® y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en los estómagos de los peces con respecto a los diferentes niveles de inclusión de los mismos.

5. ÁREA DE ESTUDIO

Los alevinos de *Piaractus brachypomus* fueron adquiridos en la Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos (IALL) y transportados vía aérea hasta la ciudad de Santa Marta al Centro Acuícola y Agroindustrial del SENA de Gaira, donde se dio inicio a dos fases: una de prelevante que se realizó en estanques y la fase experimental, en la que se evaluó el probiótico y la levadura, que se desarrolló en los laboratorios de producción de peces de la estación del SENA (Figura 3).



Figura 3. Estación piscícola del Centro Acuícola y Agroindustrial del SENA en Gaira.

El Centro Acuícola y Agroindustrial SENA-Gaira, está ubicado en el sur-occidente de la ciudad de Santa Marta, en el corregimiento de Gaira, posee un área de 137.5 Ha, dedicadas a la enseñanza de actividades agropecuarias y pedagógicas. En sus predios cuenta con una estación piscícola que tiene un área de 5 Ha en las que se encuentran distribuidos: estanques en tierra y en mampostería, laboratorio de alimento vivo, sala de reproducción y larvicultura (Piñeros et al., 2000).

La estación piscícola recibe aguas provenientes del río Gaira, cuenca hidrográfica de la Sierra Nevada de Santa Marta. El agua de la estación puede clasificarse como blanda 52.29 mg/l; no obstante, posee una carga alta de iones metálicos. pH y oxígeno disuelto no fueron limitantes para la vida acuática (Piñeros et al., 2000).



6. METODOLOGÍA

6.1 FASE DE PRE-LEVANTE

Una vez que se recibieron en Santa Marta los alevinos (2 ± 1 g) se sometieron a un tratamiento profiláctico que consistió en mantener a los animales en estanques de mampostería con agua filtrada y aireación, se utilizó una solución de FMC (formaldehído al 37% y 0.37 g de azul de metileno, de esta nueva solución se agregan 2ml/100ml de agua), mebendazol (0,37mg/100ml de agua) y nifurpirinol (0,37mg/100ml de agua), se mantuvieron allí durante 48 horas con tratamiento modificado de Bassleer (1983). Luego, los animales fueron sembrados en un estanque en tierra de 200 m², alimentados tres veces al día con Mojarra al 38% de proteína a razón del 10% de su peso corporal durante tres meses. Pasado este tiempo, se trasladaron al laboratorio de reproducción de peces de la estación piscícola (SENA Gaira).

6.2 FASE EXPERIMENTAL

Para iniciar la fase experimental se realizó una biometría donde fueron seleccionados animales con peso promedio 80 ± 2 g, con vitalidad y habilidad para capturar el alimento; una vez en el laboratorio se sometieron a un tratamiento profiláctico como se explicó anteriormente.

Inicialmente, los juveniles de *P. brachypomus* se aclimataron a las nuevas condiciones y fueron distribuidos de forma aleatoria en 21 tanques de 250 l (unidades experimentales) a razón de 1 individuo por cada 30 l de agua (8 individuos/tanque). Se mantuvieron en iguales condiciones: aireación permanente para conservar niveles de oxígeno próximo a saturación y recambio constante de 1 a 0.5 l/min (Figura 4); el oxígeno, la temperatura y el pH del agua se midieron diariamente, y cada quince días se tomaron lecturas de concentración de nitritos y amonio (Anexo A). Se realizó un recambio de

agua parcial (50%) cada tres días y uno total semanalmente con el fin de realizar limpieza a los tanques. La dieta formulada sin ningún tipo de estimulador de crecimiento fue suministrada a los diferentes tratamientos durante 8 días, con el propósito de acostumbrarlos a la nueva alimentación.



Figura 4. Distribución de los tanques de 250 l en la fase experimental, con aireación y recambio permanente.

6.3 ELABORACIÓN DE LA DIETA

Para evaluar los probióticos se utilizó una dieta formulada al 32% de proteína tomando como base los niveles de nutrientes recomendados para *P. brachypomus* y peces omnívoros tropicales de agua dulce, teniendo en cuenta también los requerimientos de energía (Gutiérrez et al., 1996; Vásquez-Torres et al., 2002b). La composición porcentual de ingredientes se relaciona en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición porcentual de ingredientes de la dieta al 32% de proteína semejantes a los requerimientos nutricionales de *Piaractus brachypomus*.

Ingredientes	Porcentaje (%)
Harina de pescado	30.89
Harina de maíz	19.20
Harina de yuca	1.92
Harina de soya	28.80
Harina de trigo	15.65
Aceite de pescado	3.00
Pre-mezcla de vitaminas minerales	0.10
Almidón	0.44
Total	100.00

El objetivo principal de una formulación es calcular a partir de una serie de materias primas, una combinación que cubra los requerimientos nutricionales específicos y particulares de la especie a la que va dirigida el alimento, al menor costo (Dorado, 1996). Considerando que los ingredientes de la dieta estaban constituidas por diferentes materias primas, las cuales presentaron distintos tamaños y densidades; fue necesario realizar la molienda de estos, y luego cernirlas en un tamiz (220 μm) con el fin de obtener una mezcla lo más uniforme posible, partiendo del hecho de que mientras más pequeñas sean las partículas, aumenta la superficie específica del material por lo cual su digestibilidad será mayor, ya que el proceso de digestión química se inicia con un ataque enzimático de la superficie (Ortega, 1996).

El alimento se preparó combinando los ingredientes secos, húmedos y agua, teniendo en cuenta las premezclas (vitaminas y minerales), es decir, que al ser cantidades tan pequeñas se garantizó que quedaran bien distribuidas en el alimento; para evitar la oxidación de las vitaminas se mezcló con aceite. Las cantidades exactas de cada ingrediente fueron homogenizadas con la ayuda de un mezclador.

Posteriormente, la masa se pasó por un molino eléctrico logrando que saliera en forma de espagueti (Figura 5); se colocó en bandejas y se secó a la sombra a una temperatura entre 35 y 40 °C, durante 12 h (Dorado, 1996); una vez seco, el producto fue fraccionado manualmente; se empacó en bolsas plásticas gruesas cerradas herméticamente y se almacenó en tanques rotulados de acuerdo al tratamiento correspondiente. Finalmente, el concentrado se conservó en un lugar fresco y seco, para evitar el deterioro del producto a causa de la humedad.

En la investigación se evaluaron seis niveles de inclusión, tres de un probiótico y tres de una levadura (Figura 6). Los tratamientos que se evaluaron fueron:

- A) Dieta al 32% de proteína + Nutribacter ® al 0.05%
- B) Dieta al 32% de proteína + Nutribacter ® al 0.10%
- C) Dieta al 32% de proteína + Nutribacter ® al 0.15%
- D) Dieta al 32% de proteína + *S. cerevisiae* al 5%
- E) Dieta al 32% de proteína + *S. cerevisiae* al 10%
- F) Dieta al 32% de proteína + *S. cerevisiae* al 15%
- G) Control (Dieta al 32% de proteína)



Figura 5. Obtención de tirillas de alimento concentrado ya homogenizado con ayuda de un molino eléctrico.

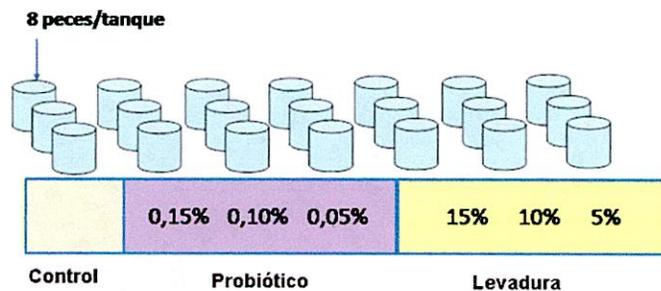


Figura 6. Esquema del diseño experimental que se utilizó para evaluar los diferentes niveles de inclusión de probiótico y levadura en una dieta al 32% de proteína suministrada a juveniles de cachama blanca *Piaractus brachypomus*.

Para lograr una impregnación y distribución homogénea del probiótico, por cada kg de alimento se pesaron 5 g de almidón y se disolvieron en 100 ml de agua esto por el hecho de que se impregnó el concentrado directamente (López y Espinosa, 2005).

La solución con almidón fue calentada hasta punto de ebullición, manteniendo constante agitación para evitar la formación de grumos, dejándose reposar, luego se adicionó el probiótico impregnándose a la mezcla. El probiótico se incorporó por micro mezclas al 0.05, 0.10 y 0.15%, se tuvo en cuenta que la cantidad de agua utilizada para humedecer la mezcla debió estar relacionada con la cantidad de agua empleada para prepara el almidón, con el fin de que no quedara la mezcla muy húmeda. Por otra parte, en el caso de la levadura se homogenizó directamente en el mezclador, dada las características y cantidades de ésta.

Luego de los ocho días de suministro de la dieta base, se dio inicio a la alimentación de los juveniles, con la dieta y sus respectivos niveles de inclusión de probiótico y levaduras; la cual se realizó diariamente y durante dos meses. Los peces fueron alimentados tres veces al día, a excepción de las jornadas en que se hicieron las biometrías, aplicando el suministro de alimento hasta aparente saciedad. Al final de cada día se obtenía el cálculo del consumo diario de alimento, lo que permitió llevar un control estricto de su consumo (Anexo B) y conocer la ración diaria a la cual eran alimentados los juveniles de la especie estudiada.

6.4 BIOMETRÍAS

Cada quince días, los peces fueron muestreados por separado, pesados y medidos individualmente con ayuda de una malla suave que permitía una mejor manipulación. Posteriormente, eran secados, suave y rápidamente con una toalla para realizar las mediciones y pesaje (Figura 7), los cuales fueron anotados en el formulario correspondiente (Anexo C). Paralelo a las actividades

de muestreos, los tanques se lavaban muy bien, con una solución de hipoclorito de sodio al 5%, enjuagado con abundante agua. Luego, se colocaban al sol durante media hora para eliminar los residuos químicos que pudieran haber quedado. Los peces se colocaron temporalmente en tanques con aireación, mientras se realizaba la profilaxis. Todo esto con el fin de mantener las mejores condiciones de higiene en los tanques y evitar proliferación de enfermedades.



Figura 7. Medición (a) y pesaje (b) de ejemplares de *Piaractus brachypomus* durante las biometrías realizadas quincenalmente.

6.5 EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO

Con los datos obtenidos se realizaron los siguientes cálculos para evaluar el crecimiento y la efectividad del alimento (Vásquez-Torres et al., 2002a):

Ganancia en Peso (GP)

$$GP = P_f - P_i$$

P_f: peso final (g)

P_i: peso inicial (g)

Consumo de Alimento (ACI)

$$ACI = MSi(g) / Pf (kg)$$

MSi = Ingestión total de materia seca durante los 60 días del experimento con relación a la biomasa corporal final.

Tasa Específica de Crecimiento (SGR)

$$SGR = 100 \cdot [\ln(P_f) - \ln(P_i)] / \text{tiempo (días)}$$

Tasa de Conversión Alimenticia Aparente (FCR)

$$FCR = MSi/GP$$

Tasa de eficiencia de Utilización de Proteína (PER)

$$PER = GP \text{ (mg/día)}/PBC \text{ (mg/día)}$$

PBc = gramos de proteína bruta consumida

Supervivencia

$$Supervivencia (\%) = \left(\frac{nf}{ni} t_1, t_2, \dots, t_n \right) * 100$$

ni = Número inicial de individuos

nf = Número final de individuos

t = Período de muestreo en días

6.6 DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE (CDA)

En estudios de nutrición, el Coeficiente de Digestibilidad Aparente es utilizado con el objetivo de determinar el valor nutricional de un alimento (Rodríguez, 1994). De acuerdo con McGoogan y Reigh (1996), la digestibilidad de los ingredientes de un alimento depende principalmente de su composición química y también de la capacidad digestiva del animal. La Digestibilidad Aparente es una forma de medir la facilidad con la que el alimento es transformado en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición (Ortega, 1996). En el presente estudio, se utilizó el método indirecto, es decir, la medición de la digestibilidad utilizando un marcador inerte no digerible (óxido de cromo), el cual fue incorporado al alimento y luego analizado en él y en las excretas.

6.6.1 Fase de evaluación de la digestibilidad

Se sembraron al azar 8 peces por cada tanque y se evaluaron siete tratamientos cada uno con tres replicas, para un total de 21 tanques de la misma forma que se evaluó el crecimiento. Los sistemas en los cuales se colectaron las heces fueron los mismos 21 tanques pero inclinados, adaptados con un sistema de abastecimiento de agua en la parte superior y un sistema de

recambio de agua superficial que permitió la acumulación de materias fecales en la parte inferior de los tanques.

6.6.2 Preparación y suministro de las dietas

Cada una de las dietas experimentales se realizaron nuevamente y se le añadió óxido de cromo (Cr_2O_3) en una proporción del 0.5% como marcador inerte (Glencross et al., 2005; Köprücü y Özdemir, 2005; Zhou et al., 2004; Lee, 2002; Allan et al., 1999). Este fue adicionado en seco desde el inicio de la actividad de la mezcla, para garantizar total homogeneidad en el alimento. Al día siguiente de la siembra, los juveniles de *P. brachypomus* fueron alimentados a saciedad dos veces al día, durante diez días, con cada una de las siete dietas preparadas con óxido de cromo a los diferentes niveles de probiótico (0.05%, 0.1%, y 0.15%) y levadura (5%, 10% y 15%).

Las paredes de los tanques se limpiaban y el agua se cambiaba en su totalidad; antes de alimentar, se dejaba pasar un tiempo de media hora aproximadamente para iniciar el proceso de alimentación, dependiendo la disposición de recibir el alimento por parte de los peces; se iniciaba la alimentación mediante la estrategia *ad libitum* dos veces al día entre las 9 am–2 pm, media hora después de cada suministro, eran retirados cualquier residuo de alimento de los tanques experimentales para evitar procesos de lixiviación; las muestras eran recogidas una hora después de haber sido alimentados (Figura 8). Este procedimiento se realizó dos veces durante el día (Allan et al., 1999).

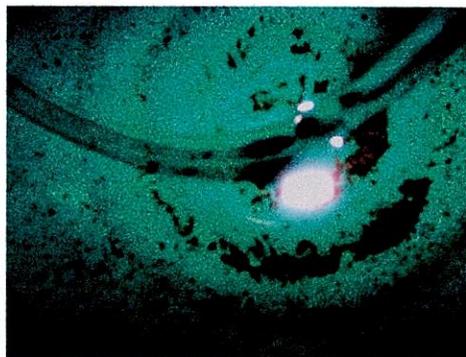


Figura 8. Recolección de heces de *P. brachypomus* durante la fase de evaluación de la digestibilidad

6.6.3 Procesamiento de las muestras

Una vez colectadas muestras de heces de cada tratamiento, fueron centrifugadas durante 10 min, eliminando el líquido sobrenadante. Las muestras se secaron en una estufa a una temperatura 50 °C por 24 h (Figura 9), y luego se almacenaron a temperatura de refrigeración (6 °C), para su posterior análisis químico (Manríquez, 1994 En: Castro, 1994). Las muestras fecales de cada tanque fueron reunidas en una sola al final respetando cada tratamiento del experimento y secadas nuevamente.

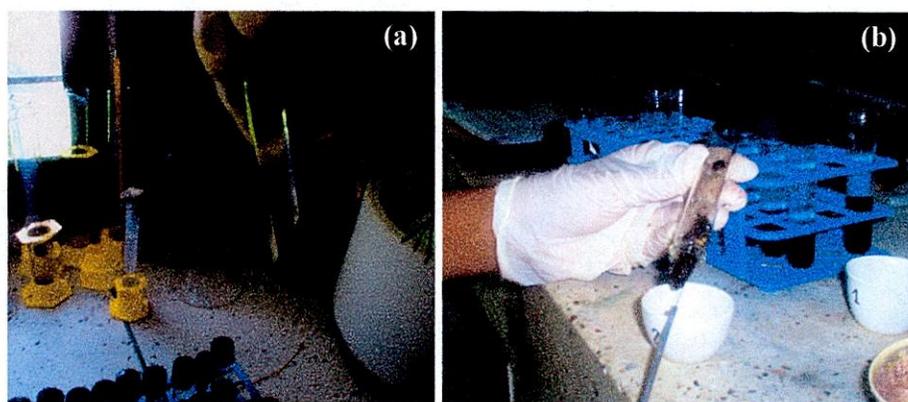


Figura 9. Procesos de centrifugado de las muestras con heces (a) y secado en crisoles al horno para obtención de materia seca (b).

6.6.4 Análisis químico

Este procedimiento se realizó siguiendo los protocolos (Ortega, 1996; Manríquez, 1994 En: Castro, 1994; CAICYT, 1987;). Todos los análisis químicos de cada una de las muestras y dietas se evaluaron por triplicado. Los análisis realizados fueron los siguientes: el método de digestión (Kjendahl catalizado con cobre) – 984,13, para la determinación de porcentaje de proteína bruta; Gravimétrico – 920,39 para Extracto Etéreo, Incineración Directa – Gravimétrico– 942,05 para porcentaje de Cenizas y el contenido de Oxido de Cromo por Espectrofotometría por Absorción Atómica (AOAC, 1995). Con los datos obtenidos se realizaron los siguientes cálculos:



▪ **Cantidad de óxido de cromo (mg), presente en la muestra (O.C%):**

$$Y = a + bx$$

$$\text{De donde } X = \frac{Y - a}{b}$$

Y = Absorbancia

a y b = Constantes que se obtienen de las ecuaciones de regresión de la recta con las lecturas de las concentraciones finales

▪ **Porcentaje del óxido de cromo en la muestra:**

$$O.C(\%) = \frac{X}{A} * 100$$

X= Peso del óxido de cromo

A= Peso de la muestra

▪ **Coefficiente de digestibilidad aparente:**

$$CDA = 1 - \left(\frac{\% \text{ Óxido de cromo en alimento}}{\% \text{ Óxido de cromo en heces}} \right)$$

▪ **Coefficiente de digestibilidad de los nutrientes:**

$$CDA = \left(\frac{\% \text{ Óxido de cromo en alimento}}{\% \text{ Óxido de cromo en heces}} \right) * \left(\frac{\% \text{ Nutrientes en heces}}{\% \text{ Nutrientes en alimento}} \right)$$

6.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ESTOMAGO

Se realizó un análisis microbiológico para comprobar la presencia de los probióticos y levadura en el estómago de los animales. Los microorganismos a los cuales se dirigió el análisis fueron *Lactobacillus* sp. y *Saccharomyces* sp. Este procedimiento se llevó a cabo al finalizar todo el proceso de evaluación de las dietas y digestibilidad (recolección de las heces). Fueron seleccionados de manera aleatoria 4 ejemplares por cada tratamiento que se ubicaron en tanques con agua y suministro de oxígeno, los animales se dejaron en ayuno durante 24 h, antes de realizar el análisis, con el fin de garantizar que los microorganismos presentes en las paredes del estómago sean realmente los

que se hayan fijado y no los que se encuentren por la acción de un proceso de alimentación reciente.

Para manejo de los animales, previo a su sacrificio, a cada tanque se le suministró tres gotas de quinaldina/10 l de agua, con el fin mantenerlos calmados. Con guantes quirúrgicos y cajas Petri estériles se inició la disección de los estómagos; luego, se pesaron en una balanza digital y se mantuvieron refrigerados durante el tiempo de extracción (Figura 10).

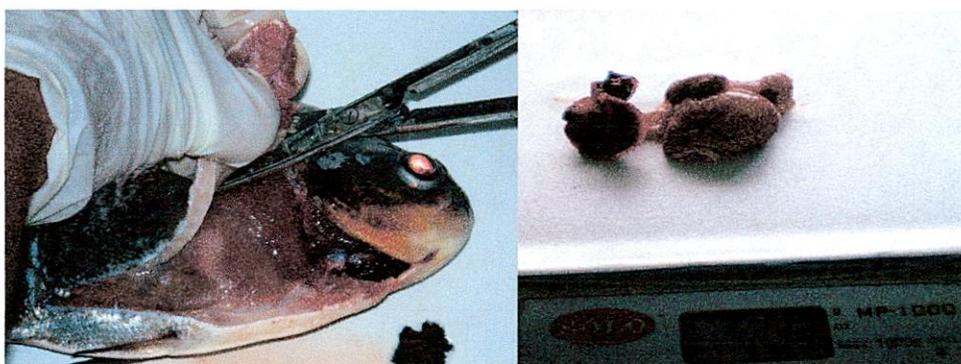


Figura 10. Disección abdominal para obtención de estómagos (a) y pesaje de cada uno en balanza digital (b).

6.7.1 Medios de cultivo para crecimiento

Levaduras: La siembra de las levaduras se realizó en un Agar YPG (Yeast-Glucose-Peptone Agar), cuya composición (% p/v) fue glucosa 2, Peptona 1, extracto de levadura 0.5 y agar-agar 15g/l. Se preparó de la siguiente forma: se suspendieron 24 g de agar YPG en 1 l de agua destilada, se homogenizó, se llevó a ebullición por 5 minutos, se ajustó el pH a 7.0 y se esterilizó.

***Lactobacillus* sp:** El recuento del probiótico se realizó en agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe), cuya composición (g/L) fue Peptona de caseína 10, extracto de carne 8, extracto de levadura 4, D(+)Glucosa 20, Fosfato dihidratado de potasio 2, Tween 80 1, Citrato dihidratado de amonio 2, Acetato de sodio 5, Sulfato de magnesio 0.2, sulfato de manganeso 0.04 y agar-agar 14. Se

suspendieron 66.2 g de Agar MRS en 1 L de agua destilada, se homogenizó, se llevó a ebullición por 5 minutos, se ajustó el pH a 5.7 y se esterilizó.

La esterilización de los medios de cultivo se llevó a cabo en autoclave a 120 °C, 15 lb de presión, durante 20 min y almacenados a 4 °C.

6.7.2 Recuento de microorganismos

La cinética de crecimiento de *Lactobacillus* sp. y *S. cerevisiae* se evaluó por la técnica de recuento en placa, que se elaboró de la siguiente manera:

Recuento de *S. cerevisiae*

Fueron pesados 10 g del total de los estómagos colectados para cada tratamiento, en un frasco tapa rosca que contenía 90 ml de solución salina al 0.1% (Figura 11), con agitación vigorosa del frasco. Se transfirió 1 ml de la dilución 10^{-1} a un tubo con 9 ml de solución salina al 0.1% para obtener la dilución 10^{-2} , mezclando cuidadosamente, transfiriendo 1 ml a otro tubo con 9 ml de solución salina al 0.1% para obtener la dilución 10^{-3} . Estos pasos se repitieron hasta obtener la dilución 10^{-8} del tratamiento. La siembra fue hecha en profundidad y por triplicado 1 ml de la dilución 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} en las cajas de Petri, con 15 ml de agar YGP fundido a 40 °C, adicionando el medio a las cajas con el medio de acuerdo con los siguientes movimientos: solidificación del agar e incubación a 30 °C por 48 horas. Se realizó el recuento, sacando el promedio y este fue multiplicando por el inverso de la dilución y fue registrado en UFC/g de estomago del pez, esto fue realizado para cada tratamiento.

Recuento de *Lactobacillus* sp.

Fueron pesados 10 g del total de los estómagos recolectados para cada tratamiento, en un frasco tapa rosca que contenía 90 ml del solución salina al 0.1%, agitándose el frasco vigorosamente, transfiriendo 1 ml de la dilución 10^{-1} a un tubo con 9 ml de solución salina al 0.1% para obtener la dilución 10^{-2} :

Estos pasos fueron repetidos hasta obtener la dilución 10^{-8} , sembrando en superficie por triplicado 0.1 ml de la dilución 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} en cajas de Petri con agar MRS (Figura 12). Fue distribuido el inculo sobre la caja con un bastón de vidrio haciendo movimientos circulares, incubando a 37°C por 24 horas. Se realizó el recuento, sacando el promedio y multiplicándose por el inverso de la dilución; reportándose en UFC/g de estomago del pez, esto se repitió con todos los tratamientos. Los protocolos de siembra y preparación de medios de cultivos se realizaron de acuerdo al manual de medios de cultivos (Merck, 1994).



Figura 11. Frasco roscado con dilución 10^{-1} (10g de estómago y 90 ml de solución salina al 0.1%).



Figura 12. Micropipeta para la siembra superficial de las diluciones en el agar MRS.



6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de los experimentos fueron analizados mediante un ANOVA a una vía con el fin de analizar las diferencias estadísticas significativas entre la ganancia en peso y los diferentes tratamientos. De igual manera se realizó para los coeficientes de digestibilidad, usando el modelo:

$$Y_{ik} = \mu + T_i + e_{ik}$$

donde Y_{ik} = el valor observado del i -ésimo tratamiento en k -ésima replica, μ = es la media general, T_i = es el efecto del tratamiento i , siendo i = las diferentes dietas presentadas en los experimentos y e_{ik} = error aleatorio asociado a cada observación. Utilizando un nivel de significancia $\alpha=0.05$

Para evaluar las diferencias significativas de las ANOVAS fue aplicada la prueba de comparación múltiple de Tukey HSD (prueba post-hoc), con el fin de conocer entre cuales niveles de inclusión de las dietas con probiótico y levadura se presentaron diferencias estadísticas significativas y así determinar la mejor o mejores opciones de niveles de inclusión en las dietas para el óptimo crecimiento y digestibilidad de *P. brachypomus*. Los intervalos de las gráficas de comparación de media se calcularon a partir del test de Tukey con 95% de confianza.

Para evaluar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza fue utilizado las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene's, respectivamente. Las pruebas estadísticas se realizaron empleando el programa Statgraphic Centurion XV versión 15.2.05.

7. RESULTADOS

7.1 EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO

En general, los animales aceptaron el alimento, pero se observó dominancia entre ellos por la competencia del alimento, mostraron voracidad luego de sifonear el tanque, es decir, con las mejores condiciones de agua.

Inicialmente, para realizar la evaluación del alimento, se examinaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las diferentes variables utilizadas (ganancia en peso, consumo de alimento, Tasa Específica de Crecimiento (SGR), Factor de Conversión Alimenticia Aparente (FCR) y Tasa de Eficiencia de Utilización de Proteína (PER). Para todas las variables, no se rechazó la idea de que provinieran de una distribución normal con un 95% de confianza ($P > 0.05$). De igual manera, no se establecieron diferencias significativas entre las desviaciones estándar ($P > 0.05$), por lo cual se concluyó que hay homogeneidad de varianzas (Tabla 6).

Tabla 6. Resumen de los resultados de las pruebas estadísticas para determinar los supuestos de normalidad y homogeneidad para cada una de las variables.

Variable analizada	Valor -P		Conclusión
	Normalidad	Homogeneidad	
	Kolmogorov - Smirnov	Levene's	
Ganancia en peso	0.079	0.058	normal y homogénea
Consumo de alimento	0.924	0.780	normal y homogénea
Tasa Específica de Crecimiento (SGR)	0.310	0.264	normal y homogénea
Factor de Conversión Alimenticia Aparente (FCR)	0.415	0.685	normal y homogénea
Tasa de Eficiencia de Utilización de Proteína (PER)	0.795	0.380	normal y homogénea

El ANOVA desarrollado para la ganancia en peso mostró diferencias significativas (Valor P de la prueba F fue < 0.05). Se detectaron cuatro grupos homogéneos (Tabla 7); los animales que consumieron la dieta con los variados niveles de inclusión del probiótico (0.05, 0.10 y 0.15 %) presentaron los mejores resultados, particularmente el T1 que fue diferente estadísticamente de todos los demás (184.86 g), seguido de T2 y T3 (140,46 g y 137,06 g) respectivamente. Los tratamientos con levadura (5, 10 y 15%) en conjunto resultaron diferentes a los tratamientos con probióticos y al control pero semejantes entre sí. Finalmente, se ubicó el control (61.72 g) como un grupo aparte a los demás (Figura 13).

Tabla 7. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada a la ganancia en peso para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras.

Tratamiento	n	Media (g)	Grupos Homogéneos
T7	18	61,72	X
T6	20	97,43	X
T4	22	102,60	X
T5	22	106,67	X
T3	21	137,06	X
T2	22	140,46	X
T1	24	184,86	X

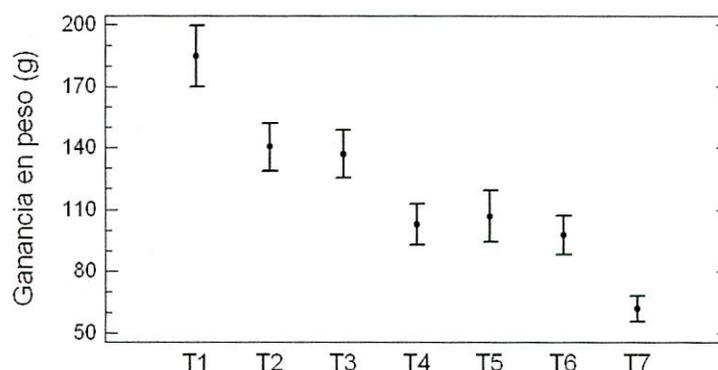


Figura 13. Gráfico de comparación de medias de la ganancia en peso de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

En el caso del consumo de alimento, se expresó en gramos ingeridos de materia seca durante los 60 días de alimentación por kilogramo de peso

corporal (gMs/kg/día). El ANOVA realizado evidenció diferencias significativas (Valor P de la prueba F fue < 0.05), mostrando tres grupos homogéneos en la prueba de rangos múltiples (Tabla 8). Para esta variable se establecieron diferencias estadísticas significativas entre los probióticos (T1, T2 y T3), la levadura (T4, T5 y T6) y el control (T7) (Figura 14), siendo nuevamente el menor consumo para T1 (15.5 gMs/kg/día), mientras que los animales del control consumieron más del doble (32 gMs/kg/día).

Tabla 8. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al consumo de alimento para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras.

Tratamiento	n	Media (gMs/kg/día)	Grupos Homogéneos
T1	3	15,50	X
T3	3	17,10	X
T2	3	17,32	X
T5	3	20,75	XX
T4	3	21,52	XX
T6	3	23,66	XX
T7	3	32,00	X

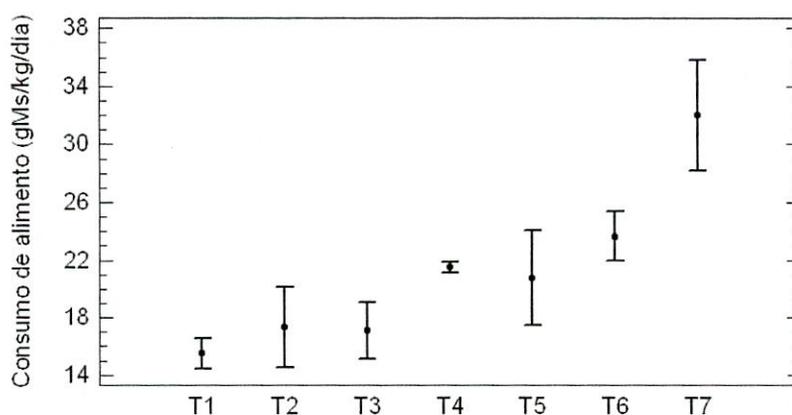


Figura 14. Gráfico de comparación de medias del consumo de alimento de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

La Tasa Específica de Crecimiento (SGR) mostró diferencia estadísticamente significativa en el ANOVA (Valor P de la prueba F fue < 0.05). Se detectaron tres grupos homogéneos en la prueba de rangos múltiple de Tukey HDS al 95% (Tabla 9) y coherente con los resultados anteriores, el T1 presentó la

mejor tasa de crecimiento (1.838) y el control la más baja (0.825), el resto (T2, T3, T4, T5 y T6) conformaron el otro grupo, sin diferencias entre sí (Figura 15).

Tabla 9. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada a la Tasa Específica de Crecimiento (SGR) para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendentes.

Tratamiento	n	Media	Grupos Homogéneos
T7	18	0.825	X
T4	22	1.172	X
T6	20	1.177	X
T5	22	1.208	X
T2	22	1.334	X
T3	21	1.418	X
T1	24	1.838	X

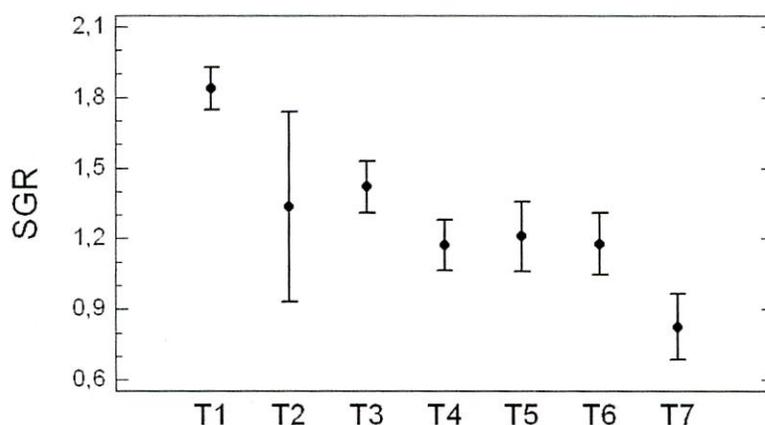


Figura 15. Gráfico de comparación de medias de la Tasa Específica de Crecimiento (SGR) de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

El Factor de Conversión Alimenticia Aparente (FCR) se expresó como la relación entre el alimento consumido y el incremento en la biomasa corporal. T1 obtuvo la FCR más baja (1.310), al menos cuantitativamente; estadísticamente no existió diferencias con los T2, T3, T4, T5 y T6 (Figura 16). Por lo cual, la diferencia planteada en el ANOVA, se manifiesta entre el control (T7) y el resto de tratamientos evaluados (Tabla 10).

Al igual que las otras variables, el ANOVA realizado a la Tasa de Eficiencia de Utilización de Proteína (PER) evidenció diferencias estadísticas (Valor P de la prueba F fue < 0.05). A pesar de que aumentó la variabilidad, en la prueba de

rangos múltiples se destaca la formación de cinco grupos homogéneos (Tabla 11).

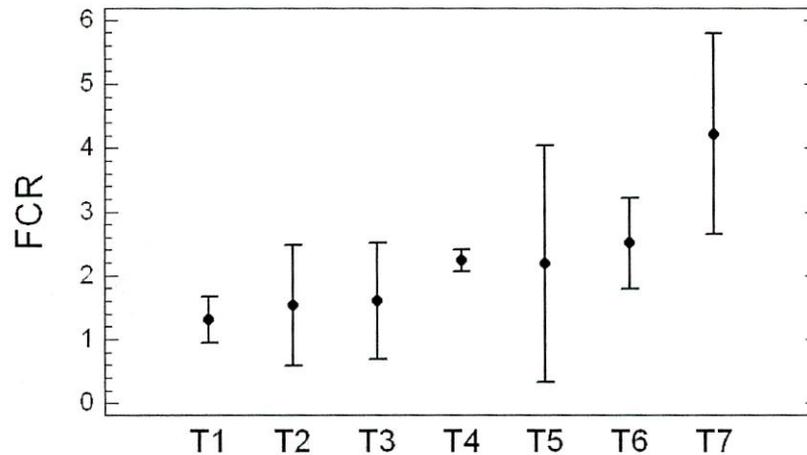


Figura 16. Gráfico de comparación de medias del Factor de Conversión Alimenticia Aparente (FCR) de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

Tabla 10. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al factor de Conversión Alimenticia Aparente (FCR) para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendentes.

Tratamiento	n	Media	Grupos Homogéneos
T1	3	1.310	X
T2	3	1.530	X
T3	3	1.596	X
T5	3	2.183	X
T4	3	2.235	X
T6	3	2.505	X
T7	3	4.218	X

Pero, en síntesis la mayor tasa de Eficiencia de Utilización de Proteína la evidenció T1 (2.078), mientras que la más ineficiente fue el control (T7) con 0.649 (Figura 17). Las diferencias se establecieron entre T1 y los tratamientos T4, T6 y T7; las otras fueron de los tratamientos T2 y T3 con T7. En resumen, los tratamientos con inclusión de probióticos (T1, T2 y T3) se diferenciaron del control y solo el probiótico T1 fue diferente de los tratamientos de levadura T4 y T6.

Tabla 11. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada a la Tasa de Eficiencia de Utilización de Proteína (PER) para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendentes.

Tratamiento	n	Media	Grupos Homogéneos
T7	3	0.649	X
T6	3	1.087	XX
T4	3	1.209	XX
T5	3	1.330	XXX
T3	3	1.749	XX
T2	3	1.839	XX
T1	3	2.078	X

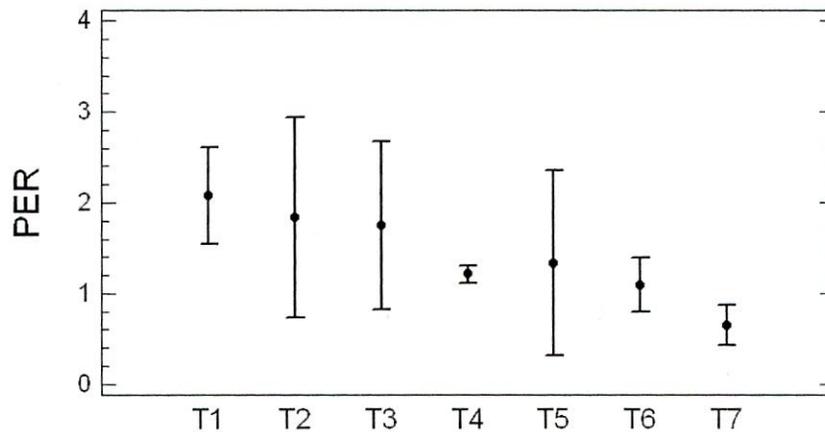


Figura 17. Gráfico de comparación de medias de la Tasa de Eficiencia de utilización de Proteína (PER) de juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

7.2 SOBREVIVENCIA

Para desarrollar los ensayos se utilizaron 168 juveniles de *Piaractus brachypomus* distribuidos en 21 tanques (siete tratamientos con tres replicas cada uno). Sólo el T1 presentó una sobrevivencia del 100% en todas sus replicas. El resto de tratamientos, al menos en uno de los tanques, mostró el 100% de sobrevivencia (Figura 18), excepto el control que tuvo mortalidades en cada una de sus replicas llegando a registrar la sobrevivencia más baja en uno de sus tanques (50%).

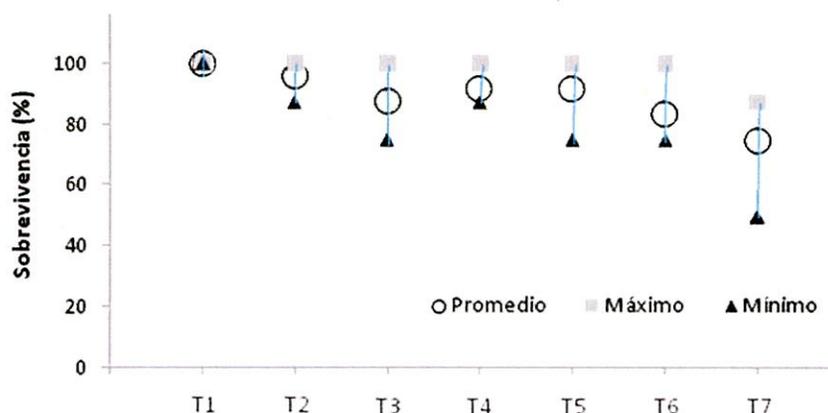


Figura 18. Medidas descriptivas (promedio, máximo y mínimo) de la sobrevivencia final de juveniles de *Piaractus brachypomus* por cada tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

Las mortalidades se observaron a partir de la segunda biometría y se estabilizaron en la tercera, al menos para los tratamientos ensayados (T2, T3, T4, T5 y T6), a excepción del control que hasta en la última biometría presentó mortalidades (Tabla 12).

Tabla 12. Porcentaje de sobrevivencia acumulada de juveniles de *Piaractus brachypomus* para cada tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control) durante las cinco biometrías realizadas.

Tratamientos	Sobrevivencia por biometría (%)				
	1	2	3	4	5
T1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
T2	100,0	95,8	95,8	95,8	95,8
T3	100,0	91,7	87,5	87,5	87,5
T4	100,0	91,7	91,7	91,7	91,7
T5	100,0	100,0	91,7	91,7	91,7
T6	100,0	83,3	83,3	83,3	83,3
T7	100,0	83,3	83,3	79,2	75,0

7.3 ANÁLISIS DE NUTRIENTES

Para efectuar los cálculos del Coeficiente de Digestibilidad Aparente se determinó la composición proximal de los nutrientes, tanto en la dieta formulada (Tabla 13) como en las heces (Tabla 14). También se analizó el porcentaje de óxido de cromo (Cr_2O_3).



Es importante mencionar que para la investigación sólo se utilizó una dieta experimental de base, y lo que varío en ella fue la inclusión en diferentes porcentajes de probiótico y levadura por ello la composición de nutrientes en la dieta varió poco, ya que el estudio planteó encontrar diferencias de los Coeficientes de Digestibilidad en función de las distintas inclusiones del probiótico y la levadura.

Tabla 13. Composición química de los nutrientes y porcentaje del óxido de cromo (Cr_2O_3) en las dietas ensayadas.

Tratamiento	Proteína (%)	Extracto etéreo (%)	Cenizas (%)	Cr_2O_3 (%)
T1	32.40 \pm 0.31	6.67 \pm 0.08	8.05 \pm 0.11	0.50 \pm 0.01
T2	33.14 \pm 0.26	5.80 \pm 0.09	7.71 \pm 0.11	0.50 \pm 0.01
T3	32.34 \pm 0.36	6.13 \pm 0.04	8.34 \pm 0.06	0.49 \pm 0.02
T4	32.40 \pm 0.42	6.03 \pm 0.06	8.02 \pm 0.06	0.48 \pm 0.01
T5	32.93 \pm 0.19	7.04 \pm 0.04	7.37 \pm 0.03	0.51 \pm 0.02
T6	32.07 \pm 0.22	7.15 \pm 0.06	7.44 \pm 0.05	0.53 \pm 0.02
T7	32.16 \pm 0.42	5.38 \pm 0.07	7.58 \pm 0.06	0.52 \pm 0.01

Los valores son promedios (n=3) \pm Desviación estándar

Tabla 14. Composición química de los nutrientes y el porcentaje de óxido de cromo (Cr_2O_3) en las heces recolectadas.

Tratamiento	Proteína (%)	Extracto etéreo (%)	Cenizas (%)	Cr_2O_3 (%)
T1	26.43 \pm 0.32	2.06 \pm 0.03	22.87 \pm 0.11	2.56 \pm 0.05
T2	26.82 \pm 0.24	2.45 \pm 0.01	23.04 \pm 0.18	2.37 \pm 0.05
T3	26.12 \pm 0.16	1.41 \pm 0.01	28.82 \pm 0.46	2.50 \pm 0.02
T4	26.74 \pm 0.02	2.27 \pm 0.08	24.02 \pm 0.18	2.45 \pm 0.04
T5	26.86 \pm 0.17	2.35 \pm 0.01	26.80 \pm 0.23	2.41 \pm 0.02
T6	26.76 \pm 0.22	2.06 \pm 0.02	28.05 \pm 0.63	2.48 \pm 0.01
T7	26.49 \pm 0.32	1.94 \pm 0.02	25.91 \pm 0.93	2.34 \pm 0.02

Los valores son promedios (n=3) \pm Desviación estándar

7.4 COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDAD APARENTE (CDA)

El promedio de los Coeficientes de Digestibilidad Aparente para el alimento y para los nutrientes (proteína, extracto etéreo y cenizas) se muestra en la Tabla 15. Los resultados definen a la dieta en general como poco digestible, en todos los casos no superó el 82%. El CDA más bajo lo presentó el control T7 (77.7%). Las proteínas de la dieta también exhibieron una baja digestibilidad que osciló entre 81.6 y 84.49 % para el control y T1, respectivamente. Las grasas mostraron los CDA más altos (95.4%) en la dieta con probiótico T3,

mientras que las cenizas los más bajos (21.8%) en el tratamiento con levadura T6.

Tabla 15. Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) para la dieta formulada y sus nutrientes (proteína, extracto etéreo y cenizas).

Tratamiento	CDA (%)			
	Dieta	Proteína	Extracto etéreo	Cenizas
T1	80.92 ±0.25	84.43 ±0.28	93.97 ±0.19	45.58 ±0.98
T2	78.86 ±0.47	82.89 ±0.48	91.07 ±0.25	36.83 ±1.10
T3	80.15 ±0.75	83.96 ±0.82	95.42 ±0.27	32.61 ±1.87
T4	81.22 ±0.45	84.49 ±0.61	92.61 ±0.30	41.25 ±0.92
T5	78.97 ±0.38	82.85 ±0.21	92.98 ±0.21	23.52 ±1.01
T6	78.60 ±0.59	82.16 ±0.77	93.83 ±0.21	21.89 ±0.92
T7	77.74 ±0.23	81.67 ±0.25	91.99 ±0.14	23.94 ±1.16

Los valores son promedios (n=3) ± Desviación estándar

Inicialmente, a los análisis estadísticos realizados a los Coeficientes de Digestibilidad Aparente, se les examinó los supuestos de normalidad y homogeneidad de las diferentes variables utilizadas (CDA Dieta, CDA proteína, CDA extracto etéreo y CDA cenizas). Todas las variables provienen de una distribución normal con un 95% de confianza ($P > 0.05$), y con varianzas homogéneas (Tabla 16).

Tabla 16. Resumen de los resultados de las pruebas estadísticas para determinar los supuestos de normalidad y homogeneidad de los diferentes Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA).

Variable analizada	Valor -P		Conclusión
	Normalidad	Homogeneidad	
	Kolmogorov - Smirnov	Levene's	
CDA dieta	0.833	0.845	normal y homogénea
CDA proteína	0.677	0.790	normal y homogénea
CDA extracto etéreo	0.999	0.993	normal y homogénea
CDA cenizas	0.235	0.971	normal y homogénea

Todos los ANOVAs realizados a los CDA evidenciaron diferencias significativas (Valor P de la prueba F fue < 0.05). En el caso del CDA de la dieta se formaron cuatro grupos homogéneos que se muestran en la prueba de comparación múltiple de Tukey HSD 95% (Tabla 17). Las diferencias se establecieron entre el T1 y los tratamientos T2, T5, T6 y T7; entre T3 y T7; y por último entre T4 y los tratamientos T2, T5, T6 y T7 (Figura 19). Se destaca el hecho de que el

probiótico y la levadura con el menor porcentaje de inclusión en la dieta (0.05 y 5%) obtuvieron los promedios de CDA más altos.

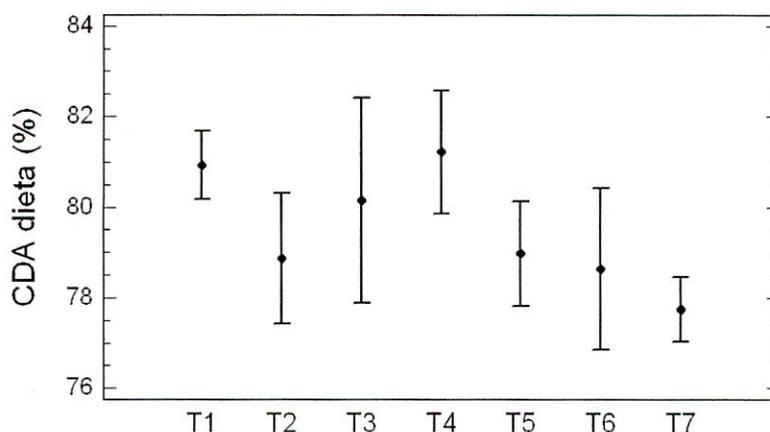


Figura 19. Gráfico de comparación de medias del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la dieta suministrada a juveniles de *Piaractus brachyomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

Tabla 17. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la dieta para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.

Tratamiento	n	Media	Grupos Homogéneos
T7	3	77.74	X
T6	3	78.63	XX
T2	3	78.86	XX
T5	3	78.97	XX
T3	3	80.15	XX
T1	3	80.92	X
T4	3	81.22	X

Las diferencias estadísticas encontradas al comparar los CDA de la proteína resultaron ser las mismas que las planteadas para los CDA de la dieta, pero en porcentajes mayores, entre 81.67 y 84.49% (Figura 20; Tabla 18).

En cuanto al extracto etéreo los CDA se diferenciaron entre casi todos los tratamientos (Figura 21), excepto entre T1 y T6 y entre T4 y los tratamientos T5 y T7. Siendo la media más alta la presentada en T3 y la más baja T2 (Tabla 19).

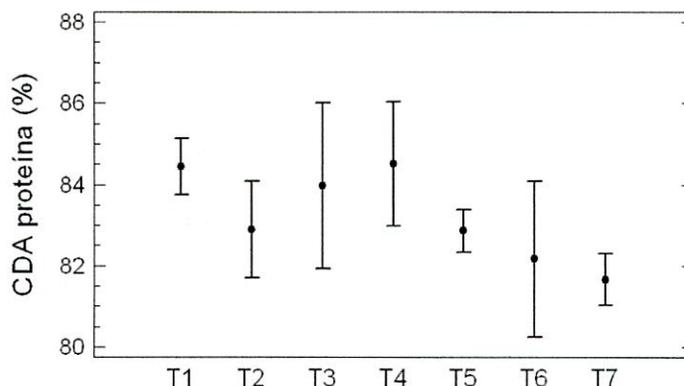


Figura 20. Gráfico de comparación de medias del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la proteína en la dieta suministrada a juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

Tabla 18. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la proteína para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.

Tratamiento	n	Media (%)	Grupos Homogéneos
T7	3	81,67	X
T6	3	82,16	X
T5	3	82,85	XX
T2	3	82,89	XX
T3	3	83,96	XX
T1	3	84,43	X
T4	3	84,49	X

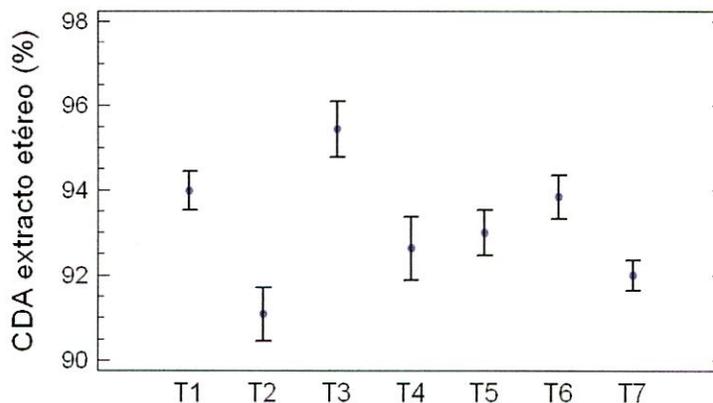


Figura 21. Gráfico de comparación de medias del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) del extracto etéreo en la dieta suministrada a juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

Tabla 19. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) del extracto etéreo para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.

Tratamiento	n	Media (%)	Grupos Homogéneos
T2	3	91.07	X
T7	3	91.99	X
T4	3	92.61	XX
T5	3	92.98	X
T6	3	93.83	X
T1	3	93.97	X
T3	3	95.42	X

Finalmente, los CDA de las cenizas también mostraron diferencias entre tratamientos, se destaca T1 que con la media más alta se distinguió del resto. Los demás tratamientos fueron diferentes entre ellos, a excepción de T5, T6 y T7 que fueron similares entre sí (Figura 22; Tabla 20).

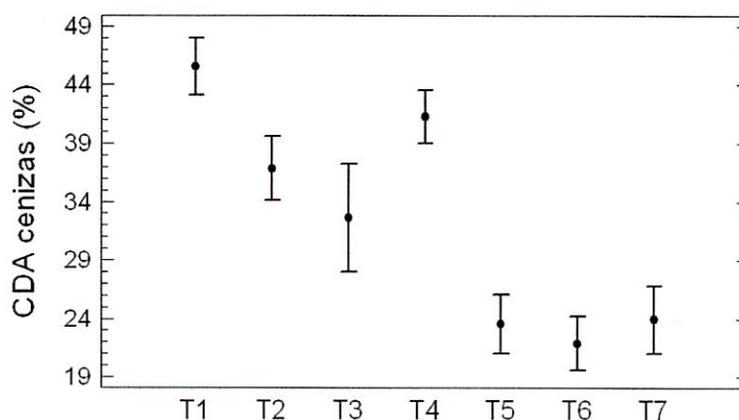


Figura 22. Gráfico de comparación de medias del Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de cenizas en la dieta suministrada a juveniles de *Piaractus brachypomus* por tratamiento (T1:Probiótico 0.05%, T2:Probiótico 0.10%, T3:Probiótico 0.15%, T4:Levadura 5%, T5: Levadura 10%, T6: Levadura 15% y T7: Control).

Tabla 20. Prueba de comparación múltiple de Tukey HSD aplicada al Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de cenizas para establecer cuales medias son significativamente diferentes de otras. Medias en orden ascendente.

Tratamiento	n	Media (%)	Grupos Homogéneos
T6	3	21.89	X
T5	3	23.52	X
T7	3	23.94	X
T3	3	32.61	X
T2	3	36.83	X
T4	3	41.25	X
T1	3	45.58	X

7.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se determinaron las Unidades Formadoras de Colonias por unidad de gramo (UFC/g) de *Lactobacillus* y *Saccharomyces* presentes en el estómago de los peces que durante los 60 días habían consumido la dieta experimental con los diferentes niveles de inclusión del probiótico y la levadura. Los resultados indican que en el T1 (probiótico 0.05%) se presentó la mayor cantidad de UFC/g que el resto de tratamientos con probióticos (T2 y T3) y el control (Figura 23). Claramente se establece una relación inversamente proporcional entre el porcentaje de ingestión de probiótico y la cantidad de bacterias fijadas en el estómago.

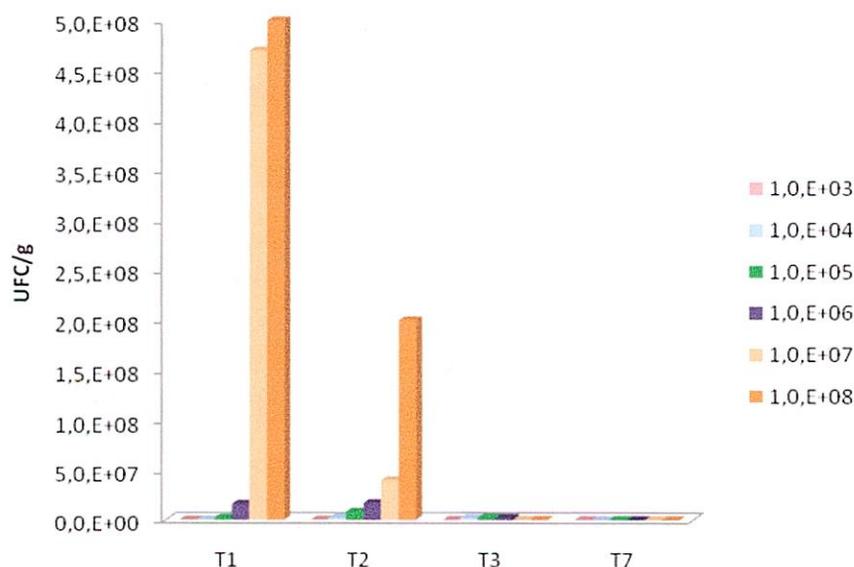


Figura 23. Unidades Formadoras de Colonias (UFC), en diferentes diluciones, de *Lactobacillus* presentes en el estómago de juveniles de *Piaractus brachypomus*, luego de 60 días de suministro de una dieta experimental con probiótico (T1: probiótico 0.05%; T2: probiótico 0.10%; T3: probiótico 0.15% y T7: control).

En el caso de la levadura *Saccharomyces*, T6 presentó las mayores cantidades de UFC/g en los estómagos de animales que recibieron la dieta con el mayor nivel de inclusión de levadura 15%, seguido del T4 y T5 que corresponden a los tratamientos de levadura al 5 y 10% (Figura 24). El número de UFC parece tener más relación con el consumo de alimento que con el porcentaje de



inclusión de levadura en la dieta; caso contrario al probiótico, que con menor consumo de alimento y menor nivel de inclusión en la dieta, registró mayor cantidad de UFC de *Lactobacillus* en los estómagos.

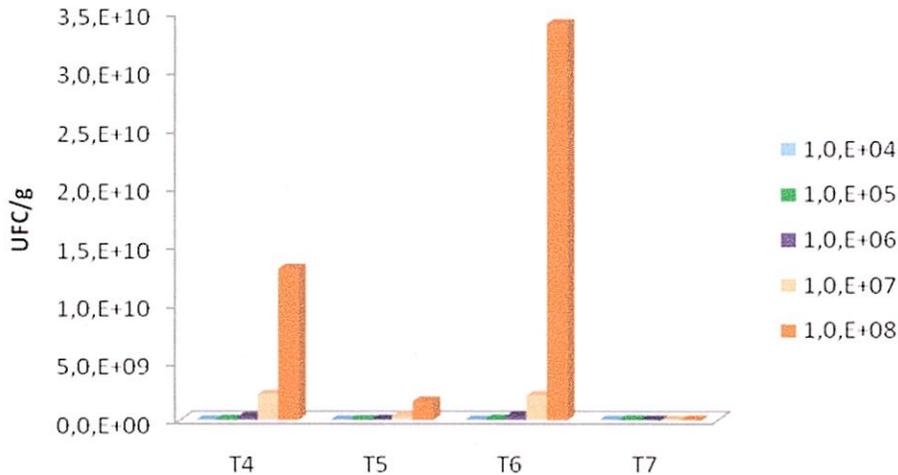


Figura 24. Unidades Formadoras de Colonias (UFC), en diferentes diluciones, de *Saccharomyces* presentes en el estómago de juveniles de *Piaractus brachypomus*, luego de 60 días de suministro de una dieta experimental con probiótico (T4: levadura 5%; T5: levadura 10%; T6: levadura 15% y T7: control).

7.6 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Dado que la investigación se realizó en condiciones de laboratorio, fueron experimentados pocos cambios en las variables físico-químicas medidas. En general, se consideró que los parámetros del experimento se mantuvieron en un rango óptimo, sin constituirse en una limitante para la vida o su metabolismo, por lo que es posible afirmar que las propiedades físico-químicas del agua no influyeron en forma desfavorable en el desarrollo normal de la investigación.

De los parámetros registrados diariamente, la temperatura fue el más fluctuante: osciló entre 26.2 y 27.8 °C, las condiciones de recambio y aireación permanente mantuvieron el oxígeno disuelto entre 6.0 y 6.8 mg/l; el pH varió poco, entre 7.6 y 7.7; los nitritos y nitratos medidos quincenalmente fluctuaron

entre 0.011 - 0.058 mg/l y entre 0.010 - 0.036 mg/l, respectivamente. La información detallada por tratamiento se describe en la Tabla 21.

Tabla 21. Parámetros fisicoquímicos registrados para cada tratamiento durante los días del experimento.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Oxígeno disuelto (mg/l)	pH	Nitritos (mg/l)	Nitratos (mg/l)
T1	27.65 ±1.05	6.32 ±0.94	7.76 ±0.64	0.026 ±0.01	0.029 0.01
T2	27.83 ±1.01	6.01 ±1.03	7.70 ±1.05	0.037 ±0.02	0.018 0.01
T3	27.47 ±1.01	6.49 ±0.90	7.72 ±1.11	0.015 ±0.01	0.020 0.01
T4	27.47 ±0.97	6.13 ±0.86	7.71 ±1.28	0.029 ±0.01	0.022 0.01
T5	27.21 ±2.54	6.54 ±1.18	7.72 ±1.57	0.058 ±0.02	0.036 0.02
T6	26.26 ±3.26	6.83 ±0.94	7.69 ±1.67	0,011 ±0.01	0.010 0.01
T7	27.55 ±1.11	6.74 ±0.99	7.65 ±0.87	0.043 ±0.02	0.030 0.02

Valores son medias ± desviación estándar

8. DISCUSIÓN

En un contexto general, las necesidades nutricionales de la dieta de las especies acuáticas cultivadas están todavía en proceso de definición (FAO, 2003b). La continua expansión y el mejoramiento de la producción exige permanentes avances en la formulación de dietas y por supuesto del requerimiento nutricional de las especies (Vásquez-Torres, 2001).

La cachama blanca *Piaractus brachypomus*, ha tenido gran aceptación entre cultivadores debido a que cumple con las condiciones requeridas para el cultivo (González, 2001). En el caso de esta especie se han: determinado requerimientos nutricionales y de energía, elaborado dietas de referencia, evaluado la digestibilidad de materias primas y realizado ensayos con probióticos e inmunoestimulantes en condiciones de laboratorio y a nivel comercial (Gutiérrez et al., 1996; Vásquez-Torres et al., 2002; Quintero y Cortes, 1991; Torres y Uribe, 1995; Gutiérrez et al., 2003; Biodinámica-Unillanos, 2005). Con este marco de referencias se analizó sí el uso de probióticos y levaduras favorece la digestibilidad y promueve el crecimiento.

Los resultados de 60 días de investigación destacan que el uso del probiótico (0.05%) presentó la mejor ganancia en peso (184.8 g) con la menor cantidad de alimento consumido (15.5 gMs/kg/día) y fue diferente del resto de tratamientos evaluados. Para la misma especie, Vásquez-Torres et al. (2002) en una dieta de referencia semipurificada IALL-1 obtuvo consumos más altos (17 gMs/kg/día) y la dieta control con ingredientes comunes mucho más (20.4 gMs/kg/día).

En el caso de las levaduras, se obtuvieron incrementos inferiores a los de probióticos y no se diferenciaron entre sí. Esta limitación en el crecimiento se ha evidenciado en estudios de suministro de levadura deshidratada *Saccharomyces cerevisiae* en tilapia *Oreochromis niloticus* (Medri et al., 1998;



Almeida et al., 2003). Este efecto sobre el crecimiento puede estar relacionado con las desventajas propias de la utilización de levadura en dieta para peces, Francis et al. (2001) destacaron que el uso de levadura como una fuente proteica puede ser deficiente en uno o más aminoácidos.

El consumo de alimento por su parte fue superior y diferente al resto (20.7 - 23.6 gMs/kg/día). Probablemente para suplir las carencias nutricionales de altos niveles de inclusión de levadura (5 - 15%) comparado a los probióticos (0.05 - 0.15 %); o simplemente por los hábitos nutricionales de la cachama, herbívoro-omnívoro, que sugiere menos problemas de adaptación al alimento.

Para *O. niloticus* se detectó que la tasa específica de crecimiento (SGR) disminuyó a medida que aumentó el nivel de inclusión de levadura en la dieta (Almeida et al., 2003), caso similar al desempeño de *P. brachypomus* en este estudio con el suministro de probióticos y diferente a la levadura que no presentó diferencias en la tasa de crecimiento. T1 fue La mejor tasa de crecimiento (1.8) y estuvo entre el rango obtenido por Vásquez-Torres (2002) de 2.1 a 1.4. La menor tasa de crecimiento de los tratamientos con levadura evidencia una baja eficiencia alimenticia, debido a que estos fueron los de mayor consumo de proteína y menor incremento en peso. Sin embargo, Roberts y Bullock (1988), destacan que son las fuentes proteicas deficientes las que determinan el crecimiento limitado de los peces. Aunque Sholz et al. (1999) reportaron que aún cuando los crustáceos tienen diferencias en su sistema digestivo con respecto a los peces la levadura no representó un elemento determinante en el crecimiento de *Penaeus vannamei*.

El Factor de Conversión Alimenticia Aparente (FCR) no mostró diferencias entre los tratamientos de probióticos (0.05, 0.10 y 0.15%) y levaduras (5, 10 y 15%), pero ambos fueron diferentes al control. Cuantitativamente, T1, T2 y T3 (probióticos) tuvieron los promedios más bajos: 1.31, 1.53 y 1.59, respectivamente. Otros resultados de FCR obtenidos para *P. brachypomus* utilizando diferentes regímenes de alimentación y niveles de proteína oscilan

alrededor de: 1.18 a 1.19 (Baras et al., 1996 En: Vásquez-Torres, 2002), 2.4 a 6.9 (Gutiérrez et al., 1996) y para dietas semipurificadas 1.08 (Vásquez-Torres, 2002) y 0.64 (Palacios et al., 2006). Otras especies de la familia registran FCR de 2.7 a 3.0 para juveniles *P. mesopotamicus* (Abimorad y Carneiro, 2007) y de 1.2 a 2.0 para *Colossoma macropomum* (Reyes y Subero, 2000). Por otro lado, la baja tasa de conversión alimenticia en los animales a los cuales se les administró el probiótico puede estar relacionada con la capacidad de las bacterias ácido lácticas de degradar los macro nutrientes a moléculas más simples (Naidu et al., 1999). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Uc (1999), quien observó que ciertas bacterias de la microflora eran eliminadas al administrarse antibióticos en dietas para tilapia, lo que ocasionaba una disminución en el aprovechamiento del alimento, mientras que al proporcionarle el probiótico se aumentaba la eficiencia del mismo.

En el caso de los tratamientos con levaduras al 5, 10 y 15% los FCR (2.1 a 2.5) fueron similares e inferiores a los reportados para *O. niloticus* por Medri et al. (1998) de 2.5 y 2.8 y Almeida et al. (2003) de 2.4. Probablemente debido a que los mayores niveles de inclusión de levadura en la dieta (30 – 40 %) ocasionaron problemas de textura y palatabilidad contribuyendo a disminuir el consumo de alimento y consecuentemente afectando el FCR.

En general, los FCR obtenidos tanto en los tratamientos con probióticos como con levaduras mostraron una Tasa de Eficiencia de Conversión del alimento (1.2 y 2.0) considerada normal para peces (Parker, 1987; De Silva y Anderson, 1995 En: Vásquez-Torres, 2002).

Las Tasas de Eficiencia de Utilización de Proteína (PER) fueron más altas en los probióticos que en las levaduras; sin embargo, sólo el probiótico (0.05%) fue diferente estadísticamente de los tratamientos con levadura (5 y 15%). Todos fueron superiores al control. Aunque se utilizó una dieta isoproteica (32%), los probióticos con un PER entre 1.74 y 2.07 arrojaron resultados aceptables comparados a los obtenidos con dietas mayores al 37% de proteína

1.94, 2.28 y 2.11; la dieta semipurificada de referencia (32%) estuvo por encima con 2.69 (Vásquez-Torres, 2002). Otras dietas encontraron PER inferiores: 1.6 para *P. mesopotamicus* (Abimorad y Carneiro, 2007).

Las evidencias en algunos estudios con especies del género *Piaractus*, indican que el aprovechamiento proteico es inversamente proporcional a los niveles de proteína en la dieta. Cuanto más altos son los niveles de proteína en la dieta más baja es su eficiencia de utilización; así, también, la no inclusión de requerimientos mínimos de carbohidratos conlleva a que el pez degrade y utilice la proteína en exceso en forma de energía (Abimorad y Carneiro, 2007; Vázquez-Torres, 2002).

Otros estudios que utilizaron probióticos (*Bacillus laterosporus* aisladas del medio ambiente) en alevinos de *P. brachypomus* con una dieta al 25% de proteína, no obtuvieron diferencias en peso, talla e incremento en peso, pero si en la sobrevivencia (Gutiérrez et al., 2003). Este último efecto también se reportó en trucha arcoíris (Ashraf, 2000; Bagheri et al., 2008) y en tilapia nilótica (Lara et al., 2002).

No obstante, haber utilizado una dieta isocalórica e isoproteica, al determinar los Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA) resultaron diferentes. T4 y T1 alcanzaron el valor promedio más alto (81.22 y 77.74%), ratificando los resultados en *O. niloticus* de Almeida et al. (2003) quien reportó las mejores tasas de utilización de proteína en el tratamiento con menor inclusión de levadura (10%): De hecho, entre sus recomendaciones está la de experimentar con porcentajes de inclusión más bajos en especies con otros hábitos alimenticios (e.g. cahamas).

El hecho de que los tratamientos con los menores niveles de inclusión obtuvieran los CDA más altos, resulta lógico, ya que no siempre los niveles más altos de probióticos mejoran los resultados, por lo que deben evaluarse antes de su aplicación a gran escala y evitar efectos negativos. Es posible que



altos niveles de probiótico en la dieta ocasionen un desequilibrio no patógeno de la flora bacteriana del tracto intestinal bloqueando receptores de adhesión evitando que se fijen, colonicen y permanezcan en la mucosa gastrointestinal.

Los CDA para los nutrientes también resultaron diferentes entre tratamientos, en todos se destacan T1 y T4: CDA de proteína (ambos 84.4%), CDA de cenizas (45.5% en T1 y 41.25% en T4). El CDA de extracto etéreo resultó más alto en los tratamientos con los mayores niveles de inclusión de probiótico y levadura, a excepción del T1 (93.9%). El buen desempeño de la levadura frente a los CDA obtenidos es probable que se deba a la estimulación de enzimas intestinales que es favorecida entre otras por las poliaminas secretadas por las levaduras, como éste, diversos mecanismos del efecto benéfico a nivel de la digestibilidad de nutrientes han sido descritos (Ochoa y Vázquez-Juárez, 2004).

Otras investigaciones han determinado porcentajes de digestibilidad más altos para proteínas. Quintero y Cortes, (1991) determinaron para *P. brachypomus* los CDA de la proteína de harina de arroz y torta de palmiste (94.1 y 95.1%); Torres y Uribe (1995) hicieron lo propio con harinas de maíz, sorgo, soya y pescado en diferentes porcentajes de sustitución reportando CDA entre 127.5 y 90.9 %, 88.2 y 76.7%, 100.8 y 92.2% y 110.6 y 97.1, respectivamente. Sin embargo, los valores registrados en esta investigación son comparables a los de Ogino et al. (1973) (En: Quintero y Cortes, 1991), quienes sugieren que la digestibilidad de proteínas en alimentos para peces oscila entre 95.2 y 95.5% o entre 78.3 y 88.3% que fue el rango de digestibilidad en alimentos comerciales de trucha disponibles en Argentina, comparado con un concentrado "starter" de Chile que obtuvo 91.3% (Hualde et al., 2002).

Las diferencias de los CDA de cada tratamiento seguramente están muy relacionadas con la ausencia o presencia de stress el cual se considera un factor importante en la variación de la microflora intestinal (Suzuki et al., 1989), algunas condiciones que pudieron desencadenar stress en los animales

pueden ser: concentraciones de cloro en el agua, disminución de la concentración de oxígeno, suspensión de recambios y confinamiento.

En otra especie del género *P. mesopotamicus*, Abimorad y Carneiro (2007) determinaron los CDA de la proteína entre 88.3 y 91.8% con diferentes niveles de proteínas, lípidos y carbohidratos, con el propósito de encontrar combinaciones óptimas de los niveles de lípidos y carbohidratos en la dieta que permitieron maximizar el uso de las proteínas.

Caso contrario ocurrió con el CDA de la grasa que resultó ser superior en los tratamientos con probióticos y levaduras entre 95.4 y 91.0% a los reportados por Quintero y Cortes (1991) para *P. brachypomus* de 85.9 y 87.7% y por Hualde et al. (2002) para *Oncorhynchus mykiss* de 73.4 a 93.7%.

Los CDA de las cenizas mantuvieron la tendencia de que los mayores porcentajes se presentaron en los más bajos niveles de inclusión del probiótico y la levadura. Quintero y Cortes (1991) no detectaron diferencias estadísticas en los CDA de las cenizas para la torta de palmiste y harina de arroz, mientras que la investigación de Torres y Uribe (1995) mostraron diferencias estadísticas en los distintos porcentajes de inclusión de harinas de maíz, sorgo y pescado, excepto para la harina de soya. Adiciones de minerales se manifestaron como óptimas en ensayos con truchas y carpas jóvenes, también los contenidos de cenizas, calcio, fósforo y magnesio de los peces fueron influenciados por el aporte dietario de los animales (Ogino y Kamizono, 1975 En: Quintero y Cortes, 1991; Steffens, 1987).

El hecho de que los resultados de la digestibilidad de nutrientes (proteína, extracto etéreo y cenizas) no mantuvieran un patrón similar a los mostrados en los parámetros de evaluación del crecimiento es posible que se deba no solo a la presencia del probiótico en el estómago, sino a la capacidad que tienen los receptores de adhesión de colonizar y facilitar los procesos de estimulación enzimática que coadyuvan a una mejor asimilación de nutrientes.

En estudios realizados con animales terrestres (Bougon et al., 1988; Rychen y Nunes, 1994), se ha observado que la digestibilidad se incrementa considerablemente al administrar algún tipo de probiótico. Con los resultados de la investigación, se puede argumentar que en este caso sucedió un efecto similar en cachama blanca y que también se presentó en *O. niloticus* (Lara et al., 2002).

Por otra parte, detectar mejores porcentajes de digestibilidad en este estudio contribuye a reducir el impacto negativo sobre el ambiente, causante de enfermedades infecciosas al mismo tiempo que disminuye la carga de nutrientes en los efluentes provenientes de los sistemas productivos (Aguado et al., 2004; Bergheim et al., 1991). En este sentido, aumentar la digestibilidad de las dietas comerciales y el uso adecuado de probióticos resultan ser estrategias de producción ambientalmente amigables.

En cuanto a la presencia del probiótico en el estómago fue determinada sólo para los géneros *Lactobacillus* y *Saccharomyces*; las mayores cantidades de UFC de los microorganismos se registraron en la baja inclusión de probiótico y en la alta inclusión de levadura. Gutiérrez et al. (2003) no detectaron la presencia del *Lactobacillus laterosporus*, sólo reconocieron microorganismos gran negativos de crecimiento no exigente, pertenecientes en su mayoría a la familia Enterobacteriaceae; y únicamente se registró un microorganismo de la familia Pseudomonadaceae. En el trabajo de Gutiérrez et al. (2003), la proteína disponible en la dieta fue del 25% y el probiótico se agregó en dosis de 0.005, 0.01 y 0.02 cc/animal/día. La investigación concluyó con la necesidad de conocer las regiones susceptibles de colonización bacteriana.

El pobre desempeño de los tratamientos con levadura quizás se deba a que las células de levaduras se vean sometidas a diferentes condiciones de estrés, que condicionan su viabilidad y su capacidad de conducir a una mejor asimilación en el pez. Por otra parte, la eficiencia de un probiótico radica en la capacidad



que tenga éste de estimular enzimas digestivas y quizás *S. cerevisiae* no sea un estimulador eficaz para enzimas de *P. brachypomus*. Este caso también se presentó en una cepa de levadura aislada de trucha arcoíris *Debaryomyces hansenii* HF1, la cual es capaz de estimular la secreción de amilasa y la actividad de enzimas en larvas de lubina, mientras que *S. cerevisiae* no (Waché et al., 2006).

El suministro de un probiótico en forma exógena, como en este caso, y sin conocimiento de la composición y magnitud de la flora intestinal puede conllevar a obtener resultados indeseados. Para minimizar los efectos provocados por las amplias diferencias entre los ambientes en que se desarrollan los microorganismos, debe realizarse la selección de cepas de bacterias individuales como probióticos. Sin embargo, este es un proceso complejo, ya que el conocimiento que se tiene de la interacción entre las bacterias y el intestino de los peces es escaso. Investigaciones recientes sugieren que los probióticos deben ser seleccionados de manera específica de los hospederos en los cuales se van a utilizar (Duwat et al., 2000).

De acuerdo a los efectos benéficos resultantes en este trabajo, se requieren seguir investigando la utilización de probiótico, ya sea en los casos de colonización natural o después del suministro en la dieta, al tiempo de tratar de dilucidar el modo de acción y determinar si la viabilidad celular es un requisito previo para la eficacia (Gatesoupe, 2006).

En el caso del ambiente en que se desarrollo la investigación, la aparición de alteraciones en la respiración y presencia de parásitos en branquias en *P. brachypomus* suelen estar asociadas a parámetros físico-químicos (Verján et al., 2001). Sin embargo, los registros de estos parámetros durante el ensayo se comportaron de forma similar a otros estudios en la estación: dureza cálcica 52.29 mg/l, pH entre 6.7 y 7.9 oxígeno disuelto 5 mg/l, nitratos, fosfatos y sulfatos en el río se encuentran en niveles aptos para acuicultura. (Piñeros et al., 2000).

Metabólicamente, La temperatura tiene un papel importante en los peces; sin embargo, los efectos varían de una especie a otra. Valores entre 26.2 y 27.5 °C se encuentran dentro del rango óptimo para *Piaractus* y *Colosoma* (Verján et al., 2001; Díaz y López, 1993; Quintero y Cortes 1991; Ramos, 1987).

La concentración de oxígeno disuelto en el agua influye en el consumo de alimento, ganancia de peso y la digestibilidad de los nutrientes. Con tasas de oxígeno entre 6.0 y 6.8 mg/l los animales no presentaron síntomas de deficiencia y mucho menos fueron limitantes para la vida (Díaz y López, 1993; Quintero y Cortes, 1991; Steffens, 1987).

El pH varió poco (7.6 y 7.7), cuyos valores de neutralidad o ligera alcalinidad son ideales para la mayor productividad en peces (Díaz y López, 1993; Huet, 1983) Aunque algunos peces resisten valores de pH extremos de 4 a 11, se experimenta un crecimiento lento y baja productividad (Rodríguez y Anzola, 2001).

Los valores registrados para nitritos y nitratos no fueron limitantes de vida (> 0.058 y 0.036 mg/l); Wedler (1998) reporta que nitratos (NaNO_3) en concentraciones de 5 g/l no ocasionan problemas para la mayoría de los peces y en nitritos el límite máximo para adultos es de 10mg/l y para juveniles de 1 mg/l.

- Finalmente, los resultados generales indican que el uso de probióticos y levadura en cachama blanca contribuyen a mejorar los rendimientos en peso y a mantener elevados niveles de sobrevivencia. Este efecto relacionado con el suministro de bacterias y levadura ha entregado buenos resultados en el incremento de biomasa de tilapias, bagres, carpas y truchas (e.g. Lara et al., 2002; Rodríguez-Méndez et al., 2006; Vazquez-Juárez et al., 1994; Bagheri et al., 2008). Además ha ayudado a mantener o restablecer una relación favorable entre microorganismos patógenos y benéficos (Ashraft, 2000).

9. CONCLUSIONES

Al evaluar el crecimiento de juveniles de cachama blanca *Piaractus brachypomus* con el probiótico Nutribacter® y la levadura deshidratada *Saccharomyces cerevisiae* se puede concluir que el uso del probiótico en niveles de inclusión del 0.05% (T1) resulta viable como una estrategia para mejorar los índices de crecimiento (GP:184.6 g, CA:15.5 gMs/kg/día, SGR:1.8, FCR:1.3 y PER: 2.0), y la sobrevivencia (100%).

En general, los animales experimentales de los tratamientos con probióticos y levadura tuvieron mejor desempeño que el control, pero los de probióticos presentaron mejores resultados que los de levaduras.

Al comparar la ganancia en peso y la tasa específica de crecimiento entre los tratamientos, T1 fue diferente estadísticamente del resto ($P < 0.05$), lo cual indica el efecto positivo de este probiótico en la dieta y deja abierta la posibilidad de su implementación a nivel comercial.

En el caso del consumo de alimento, el factor de conversión alimenticia aparente y la tasa de eficiencia de utilización de proteína, los tratamientos con probióticos obtuvieron los mejores resultados al compararlos a los de levadura, aunque estos fueron similares entre sí. Estadística y cuantitativamente las variables estudiadas resultaron siempre menos favorable para el control (T7).

Se detectaron diferencias en la determinación de los Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA) tanto de la dieta como de los nutrientes examinados, resultando mayores los tratamientos con probiótico (0.05%) y levadura (5%) con 80.9 y 81.2%, respectivamente. Dado que la formulación de la dieta fue la misma para todos los tratamientos (isocalórica e isoproteica), cambios en la capacidad digestible de los animales pueden ser atribuibles al



uso de probiótico o levadura, además factores relacionados con la textura y palatabilidad parecen afectar el alimento con altos porcentajes de levadura.

La digestibilidad del extracto etéreo (91.07 – 95.4 %) resultó mayor que la de proteínas (81.6 – 84.4 %) y cenizas (21.8 – 45.5 %), esta capacidad podría ser aprovechada para mejorar la relación proteína bruta/energía de la dieta, evitando la degradación de proteínas como fuente de energía.

La presencia del probiótico y levadura en el estómago indicó que hubo mayor presencia de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) de *Lactobacillus* en los peces que se les suministró el menor nivel de probiótico (5×10^8 UFC), estableciendo una relación inversamente proporcional entre el porcentaje de ingestión de probiótico y la cantidad de bacterias fijadas en el estómago. Mientras que en la levadura, el número de UFC parece tener más relación con el consumo de alimento que con el porcentaje de inclusión de levadura en la dieta, a mayor nivel de inclusión de levadura en la dieta (15%), mayor fue el número de UFC de *Saccharomyces* (3.5×10^{10}).

Los parámetros físico-químicos registrados para el experimento no fueron limitantes de las necesidades metabólicas y mucho menos de vida. Sin embargo, la filtración accidental de cloro al sistema repercutió en la mortalidad de los animales en los tratamientos, por lo cual no se puede ser concluyente en términos del porcentaje de sobrevivencia.

10 RECOMENDACIONES

El uso comercial de probióticos en *Piaractus brachypomus* o en cualquier especie hidrobiológica sugiere la necesidad de absolver preguntas básicas relacionadas con:

- Determinar criterios para la selección de probióticos, comprendiendo los mecanismos de fijación del estimulante en el estómago y su función sobre las enzimas determinantes para la asimilación. Asimismo, evaluar su eficiencia en función de los niveles de inclusión en las dietas.
- En razón a los diferentes grados de madurez del sistema digestivo es preciso establecer en que etapas de la vida del pez (alevinos, juveniles o hasta adultos), el probiótico resulta ser más efectivo en términos biológicos y más productivo en términos económicos.
- Evaluar en juveniles de *P. brachypomus* el uso de probióticos en diferentes sistemas de cría, como los propuestos por Kiyoko et al. (2005), que impliquen mayores densidades de siembra, mayor nivel de stress, mejor renta económica, entre otras.
- Además tal como lo plantea Verschuere (2000), profundizar en temas relacionados con probióticos es necesario para poner en práctica su uso a una escala comercial sin detrimento del ambiente (e.g. producción masiva, análisis costo-beneficio y una efectiva legislación).
- No se descarta la posibilidad de obtener mejores resultados con el uso de levaduras en dietas para cachama blanca, se debe tener en cuenta que la levadura utilizada en la investigación fue deshidratada lo que afecta la textura y palatabilidad del alimento, caso que quizás no ocurriría si la presentación es en líquido concentrado.

BIBLIOGRAFÍA

Abimorad, E.G. y Carneiro, D.J. 2007. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles — fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Nutrition*.13: 1–9.

Aguado, F.; Martínez F.J. y García-García, B. 2004. In vivo total nitrogen and total phosphorous digestibility in Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus* Linnaeus, 1758) under industrially intensive fattening conditions in Southeast Spain Mediterranean coastal waters. *Aquaculture Nutrition*. 10: 413–419.

Allan, G.L.; Rowland, S.J.; Parkinson, S.; Stone, D. y Jantrarotai, W. 1999. Nutrient digestibility for juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus*: development of methods. *Aquaculture*. 170: 131-145.

Almeida, R.; Merighi, R. y Possebon, J. 2003. Efeito de diferentes níveis dietéticos de levedura desidratada (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre o desempenho e a composição corporal da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) revertida sexualmente. CIVA 2003 89-98pp. [Disponible el 12/07/2008 En: <http://www.civa2003.org>].

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Estados Unidos: AOAC International, 1995. 4-30 pp.

Arias J.A. 1988a. Apuntes sobre el cultivo de la Cachama en el Meta. *Agrometa*, 20: 9-10.

Arias, J.A. 1988b. Ampliación del conocimiento biológico de *Colossoma* sp. en ambientes naturales de la cuenca del río Meta. En: Memorias II reunión Red Nacional de Acuicultura.

Arias, J.A. y Vásquez-Torres, W. 1988. Ampliación del conocimiento biológico de *Colossoma* sp. (Characidae) en ambientes naturales de la cuenca del Río Meta. Informe de Campo. Villavicencio, Universidad de los Llanos-Colciencias. 121p.

Ashraf, A. 2000. Probiotics in fish farming Evaluation of a candidate bacterial mixture. Vattenbruksinstitutionen. Ph. Licentiate Thesis. Rapport 19, Umeå. 18 pp.

Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of content from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*. 13: 265-272.

Bagheri, T.; Hedayati, S.A.; Yavari, V.; Alizade, M. y Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 8: 43-48.

Balcázar J.L. 2002. Uso de probióticos en acuicultura: Aspectos generales. 877-881pp. [Disponible el 24/06/2008 En: <http://www.civa2002.org>].



Barreto, C. y Mosquera B. 2001. Boletín estadístico pesquero colombiano 1999-2000. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, Bogotá. 139p.

Bassleer, G. 1983. Colorguide of tropical fish diseases on freshwater. Bassleer Biofish. Belgium. 272p.

Bateman, J.V. 1970. Nutrición Animal. Manual de métodos analíticos. Centro Regional de Ayuda Técnica. México. 448p.

Bello, R.A. y Rivas, W.G. 1992. Evaluación y aprovechamiento de la cachama cultivada, como fuente de alimento. AQUILA - Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura para America Latina y el Caribe. Project reports No.2. FAO. 121p.

Bergheim, A. y Asgard, T. 1996. Waste production from aquaculture. En: Baird, D.J.; Beveridge, M.C.M.; Kelly, L.A. y Muir, F.J. (eds.). Aquaculture and Water Resource Management. Blackwell Science, Oxford. 50–80pp.

Bougon, M.; Launay, M.; Le Méneç, M. 1988. Influence d'un probiotique, le Biocroissance, sur les performances des pondeuses. Bul. d'Inf., Station Exp. d'Aviculture de Plofragan. 28: 110-115.

Byoung-Geoun, M. y Yongseong, K. 2003. Analysis of Health related microbes by capillary electrophoresis. Bulletin of Korean Chemical Society. 24(8): 1203–1206.

CAICYT. 1987. Nutrición en acuicultura. Industrias Gráficas España, Madrid. 318p.

Cantelmo, O.A. 1989. Nutricao de peixes e acuicultura. En: Hernández, A. (ed.) Cultivo de *Colossoma*. SUDEPE, COLCIENCIAS, CIID. 89-92 pp.

CCI, 2008. Sistema de información de pesca y acuicultura. Boletín trimestral enero – marzo 2008. CCI. 35p.

Cho, C.Y. 1987. La energía de los nutrientes en los peces. En: Espinosa, J. y Labarta, U. (eds.) Nutrición en Acuicultura, Vol. II., Ed. CAICYT, España. 197-243 pp.

Cho, C.Y.; Bayley, H.S. y Slinger, S.J. 1975. An automated fish respirometer for nutrition studies. Proc. 28 th. Ann Meeting of can conf. for fish. Res., Vancouver, B C.

Cho, C.Y.; Cowey, C.B. y Watanave, T. 1985. Finfish nutrition in Asia: Methodological approaches to research and development, Ottawa, Ont., IDRC, 154p.

Cho, S.H.; Hur, S.B. y Jo, J.Y. 2001. Effect of enriched lived feeds on survival and growth in larval Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*, Hilgendorf. Aquaculture Research. 32: 199-208.

Cho, C.Y. y Slinger, N. 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for Rainbow Trout. From Proc. World Symp. on finfish nutrition and fishfeed technology, Hamburg 20-23 June, 1978. Vol II. Berlín, 239-247pp.

Cho, C.Y.; Slinger, S.J. y Bayley, H.S. 1982. Bioenergetics of salmonid fishery Energy: intake, expenditure and productivity. Comp. Biochem. and Physiol. 73B: 25-41.



- Glencross, B.; Evans, D.; Dods, K.; McCafferty, P.; Hawkins, W.; Maas, R. y S. Sipsas. 2005. Evaluation of the digestible value of lupin and soybean protein concentrates and isolates when fed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using their stripping or settlement faecal collection methods. *Aquaculture* 245: 211-220.
- González, R. 2001. El cultivo de la cachama. En: Rodríguez, H.; Victoria P. y Carrillo, M. (eds.). *Fundamentos de acuicultura continental*. INPA. 2da. Ed. Bogotá. 329-346pp.
- Gutiérrez, J. Mojica, H. y Quintero L. 2003. Evaluación del crecimiento de alevinos de cachama blanca *Piaractus brachypomus* con el uso de un probiótico. En: *Memorias IV Sem. Internacional de acuicultura, I Cong. Nac. de investigaciones acuícolas y IV muestra comercial de acuic. Univ. Nacional de Colombia–Dpto. de Cundinamarca*. Bogotá, septiembre 8 al 12 de 2003. (Disco Compacto).
- Gutiérrez, W.; Zaldívar, J.; Deza, S. y Rebaza, M. 1996. Determinación de los requerimientos de proteína y energía de juveniles de paco *Piaractus brachypomus* (PISCES, CHARACIDAE). *Folia Amazónica*. 8(2): 35-45.
- Guillot, J.F. 1993. Consequences of probiotic release in the intestine of animals. En: <http://resources.ciheam.org/om/pdf/c54/01600006.pdf>. [Disponible el 03/05/ 2004 en Versión electrónica URL: <http://resources.ciheam.org>].
- Hernández, A.; Muñoz, D.; Ferraz de Lima, J.A.; De Fex, R.; Vásquez, W.; González, R.; Morales, R.; Alcántara, F.; Luna, T.; Kossoswski, C.; Pérez, L.; Mora, J.A.; Contreras; P.J.; Díaz, F.; Fadul, E.M. y Montoya, P. 1992. Estado actual del cultivo de *Colossoma* y *Piaractus* en Brasil, Colombia, Panamá, Perú y Venezuela. *Bol. Red de Acuicultura. Colombia*, 6(3-4):3-28.
- Hossain, M.A. y Jauncey, K. 1989. Studies on the protein, energy and aminoacid digestibility of fish meal, mustard oil cake, linseed and sesame meal for common carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 83: 59–72.
- Huet, M. 1983. *Tratado de Piscicultura*. Ed. Mundi-Prensa. 749 p.
- Hualde, J.P.; Molinari, L.; Biorkman, J. y Biorkman, E. 2002. Digestibilidad de nutrientes en alimentos comerciales para trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). En: *25° Congreso Argentino de Producción Animal, Buenos Aires, del 2 al 4 de octubre 2002*. 12pp.
- Iregui, C.; Hernandez, E.; Jimenez, A.; Pulido, A.; Rey, A.; Comas, J.; Peña, L.; y Rodriguez, M. 2004. Primer mapa epidemiológico de las lesiones y enfermedades de los peces en Colombia. Univ. Nacional de Colombia, Fac. MVZ. Min. de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá D.C. 70p.
- Jobling, M. A. 1983. Short review and critique of methodology used in fish growth and nutrition studies. *Journal Fis Biology*. 23: 685-703.
- Kiyoko, R.; Carneiro, D.J. Espagnoli, M.I. Martins, G. y Portella, M.C. 2005. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. *Aquaculture*. 243 (1-4): 175-183.

- Köprücü, K., y Özdemir, Y. (2005). Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 250: 308-316.
- Kotb, A. y Lukey, T.D. 1972. Maerkes in nutrition. *Nutrition Abstracts and Review*. 43(3): 813-845.
- Lara-Flores, M.; Briones, L. y Olvera-Novoa, M. 2002. Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). En: Cruz-Suárez, L.E.; Ricque-Marie, D.; Tapia-Salazar, M.; Gaxiola-Cortés, M.G. y Simoes, N. (eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simp. Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Law, A., T., Chean, S. H., and Ang, K. , An evaluation of the apparent digestibility of some locally available plants and pelleted feed in three Finfish in Malaysia. In: Cho, C., Cowey, C., and Watanave, T., *Finfish Nutri. In Asia*. Otawa, Ont., IDRC, 1985. 90-96pp.
- Lee, S.M. 2002. "Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegelii*)."
Aquaculture 207: 79-95.
- Lilley, D.M. y Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*. 147: 747-748.
- López, I. 1994. Evaluación de la digestibilidad aparente de la torta de soya *Glycine max* (L) como ingrediente principal para cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). VIII Con. Latin. de Acuic., V Sem. Nac. de Acuic. La acuicultura y el desarrollo sostenible, Bogotá. 357-365pp.
- Ludwig, D.; Hilborn, R. y Walters, C. 1993. Uncertainty, resource exploitation and conservation: lessons from history. *Science* 260: 17-36.
- Machado-Allison, A. 1982. Estudios sobre la sub-familia Serrasalminae (Teleostei, Characidae). Parte 1. Estudio de los juveniles de la cachama de Venezuela (Géneros *Colossoma* y *Piaractus*). *Acta Biol. Venezuéllica* 11(3) :1-101.
- Madigan, M.T.; Martinko, J.M. y Parker, J. 1999. Brock: Biología de los microorganismos. 8ª. Ed. Prentice Hall Iberia, Madrid. 659-776pp.
- Manríquez, J.A. 1994. La digestibilidad como criterio de la evaluación de alimentos: Su aplicación en peces y en la conservación del medio ambiente. Control de calidad de insumos y dietas acuícolas. E. C. Campos. Roma, Italia, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO. [Disponible el 17/07/2008 en Versión electrónica URL: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S00.htm>].
- Martins de Proenca, C.E. y Leal, P. 1994. Manual de piscicultura tropical. UNESPE. Centro de Acuicultura. Brasilia. 195p.
- Maynard, L. A., y Loosli, J. K., *Animal Nutrition*. 6th. Edition McGraw-Hill Book Co., N.Y., London, Toronto, Mexico, Panama, 1969.
- McDonald, P.; Edwards, R.A.; Greenhalgh, J.F.D. y Morgan, C.A. 1997. *Nutrición Animal*, 5ª ed., Ed. Acribia. Zaragoza, España. 395p.

- McGoogan, B.B. y Reigh, R.C. 1996. Apparent Digestibility of selected Ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Aquaculture*. 141: 233-244.
- Merck. 1994. Manual de medios de cultivos. Merck. 364p.
- Muir, J.F. y Nugent, C.G. 1995. Tendencias de la producción acuícola perspectivas para la seguridad alimentaria. Declaración y plan de acción de Kyoto sobre la contribución sostenible de la pesca a la seguridad alimentaria, Kyoto, Japan, 4-9 de diciembre de 1995. Departamento de pesca FAO.
- Naidu, A.S.; Bidlack, W.R. y Clemens, R.A. 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 38(1):13-126.
- Nose, T. 1960. On the digestión of food protein by gold fish (*Carassius auratus*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull. Freshwater fisheries Res. Lab.* 10: 11-22.
- Nikoskelainen, S.; Salminen, S.; Bylund, G. y Ouweland, A. 2001. Characterization of the properties of human and dairy-derived probiotics for prevention of infectious diseases in fish. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(6): 2430–2435.
- Ochoa, J.L. y Vázquez-Juárez, R. 2004. Las levaduras marinas como herramientas científicas y biotecnológica. *Universidad y Ciencia*. I: 39-50.
- Ogino, C. 1973. Protein nutrition in fish III. Apparent and true digestibility of dietary proteins in carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries* 39: 649-651.
- Ortega, E.; 1996. Técnicas de laboratorio y control de la calidad de materia prima y producto terminado. *Fundamentos de nutrición y alimentación en acuicultura*. M. P. Soler y P. Victoria (eds.). Bogotá, Colombia, Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura - INPA: 117-177pp.
- Palacios, M.E.; Dabrowski, K.; Abiado, M.A.; Lee, K.J. y Kohler, C.C. Effect of Diets Formulated with Native Peruvian Plants on Growth and Feeding Efficiency of Red Pacu (*Piaractus brachypomus*) Juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society* 37(3): 246 – 255.
- Parker, D. 1974. Probiotics, the other half of antibiotic story. *Anim. Nutr. Health*, 29: 4-14.
- Plakas, S.M. y Katayama, T., 1981. Apparent digestibilities of amino acids from three regions of the gastrointestinal tract of carp (*Cyprinus carpio*) after ingestion of a protein and a corresponding free amino acid diet. *Aquaculture* 24, 309-314.
- Post, G.; Shanks, W.E. y Smith, R. 1965. A method for collecting metabolic excretions from fish. *Progressive fish culturist*. 27: 108-111.
- Prescott, L.M.; Harley, J.P. y Klein, D.A. 1999. *Microbiología*. 4a edición. McGraw Hill. Madrid, España. 480-520p.
- Pineda-Santis, H. 2004. Estudio genético de las cachamas (subfamilia Serrasalminae) en poblaciones naturales y en cautiverio en Colombia. *Rev. Col. Cienc. Pec. Supl.* 17: 62-63.



- Piñeros, D.; Rivera, D. y Velásquez, A. 2000. Evaluación físico-química del agua utilizada en la estación piscícola del Centro Agropecuario Gaira del SENA, Magdalena. Tesis de Especialización en Acuicultura, Universidad del Magdalena. Santa Marta. 80p.
- Quintero, L.G. y Cortes, M. 1991. Evaluación de la digestibilidad aparente de la harina de arroz y la torta de palmiste en Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). Tesis de grado Fac. M.V.Z. Univ. Nac. de Colombia. Bogotá. 137p.
- Ramos, A. 1987. Piscicultura rural. Revista Esso Agrícola. Bogotá 2:21-27.
- Reyes, P. y Subero, P. 2000. Uso de harina de carne de pollo y pulitura de arroz en la elaboración de dietas para cachama negra, *Colossoma macropomum*. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" Fac. de Agronomía. 41p.
- Ringø, E. y Gatesoupe F.J. 1998. Lactic acid bacteria in fish review. *Aquaculture*. 160:177-203.
- Roberts, R.J. y Bullock, A.M. 1988 Nutritional pathology. In: Halver, J.E. (ed.) *Fish Nutrition*. New York: Academic Press. 424-469pp.
- Rodríguez, A.M.P. 1994. Digestibility Studies in Fish: a review. Porto: Instituto de Zoología Dr Augusto, Nobre, Monografía No. 6 Porto, 30p.
- Rodríguez, H. y Anzola, E. 2001. La calidad del agua y la productividad de un estanque en acuicultura. En: Rodríguez, H.; Victoria P. y Carrillo, M. (eds.). *Fundamentos de acuicultura continental*. INPA. 2da. Ed. Bogotá. 43-63pp.
- Rodríguez, H.; Polo, G.; y Salazar, G. 1993. *Fundamentos de acuicultura continental*. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA). Bogotá. 286p.
- Rodríguez, N. 2005. Evaluación del crecimiento de juveniles de "chivo cabezón" *Ariopsis bonillai* (Miles, 1945), utilizando dos probióticos comerciales bajo condiciones de laboratorio. Tesis Medicina Veterinaria Zootecnia. Univ. Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogotá. 61p.
- Rodríguez-Méndez, N.; Gaitán, S. y Chaparro, N. 2006. Evaluación del crecimiento de juveniles del Bagre *Ariopsis bonillai* utilizando alimento con probióticos en condiciones de laboratorio. *Revista AquaTIC*. 24: 3-12.
- Rychen, G., Nunes, S., 1994. Effects of three microbial probiotics on postprandial portoarterial concentration differences of glucose, galactose and amino-nitrogen in the young pig. Report of Centre de Recherche en Nutrition Animale, Société Chimique Roche, 107 pp.
- Saldaña, A.L. y López, M.M.E. 1988. Formulación y evaluación de dietas para *Colossoma macropomum*, en México, An. VI Simp. Lat. e V Simp. Bras. de Aquic. Florianópolis. SC. 323-344 pp.
- Sastre, O.F.; Hernández, G. y Cruz Casallas, P.E. 2004. Influencia del peso corporal y de la temperatura del agua sobre el consumo de oxígeno de la Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). *Rev. Col. Cienc. Pec. Supl.* 17:11-16.

Scholz, U.; García, G.; Ricque, D.; Cruz, L.E.; Vargas, F. y Latchford, J. 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. *Aquaculture*. 176: 271-283.

Scherezenmeir S. y De Vrese M. 2001. Probiotics, prebiotics and symbiotics: approaching a definition. *American Journal of clinical nutrition*. 3: 361-364.

Smith, R.R. 1979. Methods for determination of digestibility and energy of feedstuff for finfish. From Proc. World Symp. on finfish nutrition and fishfeed technology, Hamburg 20-23 June, 1978. Vol II. Berlín, 453-459 pp.

Steffens, W. 1987. Principios fundamentales de la alimentación de los peces. Ed. Acribia, Zaragoza. 275 p.

Suzuki, K.; Kodama, Y. y Mitsouka, T. 1989. Stress and intestinal flora. *Bifibacteria Microflora* 8, 23-38.

Torres, C. y Uribe, A. 1995. Evaluación de la digestibilidad aparente de cuatro subproductos agroindustriales, fuentes de proteína y energía, en la nutrición de la Cachama Blanca, *Piaractus brachypomus* Cuvier 1818. *Bol. Cient. INPA*. 3: 40-65.

Tovar, D., Zambonino, J. L., Cahu, C., Gatesoupe, F. J., Vázquez, R., 2000. Efecto de la administración de levaduras en el proceso de maduración del tracto digestivo de peces. En: *Avances en Nutrición Acuícola. V memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Mérida, Yucatán, México.

Tunison, K.; Brocway, D.; Maxwell, J.; Sdorr, A. y McCay, G. 1943, The Nutrition of trout. *Fisheries Res. Bull.* 4: 1-42.

Tuohy, K.M; Probert, H.M; Smejkal C.W y Gibson G.R. 2003. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. 696p.

Uc Huchín, N., 1999. Estudio comparativo del efecto de la inclusión de una mezcla probiótica (*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus faecium*) y un antibiótico (Terramicina) como promotores de crecimiento en dietas de tilapia nilótica (*O. niloticus*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yuc. México, 37 pp.

Vázquez-Juárez, R.; Ascensio, F.; Andlid, T. y Gustafsson, L. 1994. Cell surface hydrophobicity and its relation to adhesion of yeasts isolated from fish gut. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*. 2: 199-208.

Vásquez-Torres, W. 2001. Nutrición y alimentación de peces. En: Rodríguez, H.; Victoria P. y Carrillo, M. (eds.). *Fundamentos de acuicultura continental*. INPA. 2da. Ed. Bogotá. 125-145pp.

Vásquez-Torres, W.; Pereira-Filho, M.; Castellanos, J.A.A. 2002a. Exigencia de proteína, carbohidratos y lípidos em dietas para juveniles de cachama blanca *Piaractus brachypomus*. *R. Bras. Zootec. suppl.* 31: 283-292.

Vásquez-Torres, W.; Pereira Filho, M. y Castellanos, J.A.A. 2002b. Exigência de proteína, carbohidratos y lípidos em dietas para juveniles de cachama blanca



Piaractus brachypomus. In: Jornada de acuicultura, 8, 2002, Villavicencio. Anais. Los Llanos: Universidad de Los Llanos. 7-21pp.

Vela, S. y Ojeda, J. 2007. Acuicultura: La revolución azul. Publicaciones científicas y tecnológicas del observatorio español de acuicultura. Observatorio español de acuicultura, Madrid. 363p.

Verján, N.; Iregui, C.A.; Rey, A.L. y Donado, P. 2001. Sistematización y caracterización de las lesiones branquiales de la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) de cultivo clínicamente sana: algunas interacciones hospedador-patógeno-ambiente. Revista AquaTIC No. 15. [Disponible el 18/08/2008 en URL: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=132>].

Verschuere, L.; Rombaut, G.; Sorgeloos, P. y Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in Aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Review. 64(4): 655-671.

Waché, Y.; Auffray, F.; Gatesoupe, J.F.; Zambonino, J.; Gayet, V.; Labbé, L. y Quentel, C. 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. Aquaculture. 258 (1-4): 470-478.

Wedler, E. 1998. Introducción en la acuicultura. Con énfasis en los neotrópicos. Corpamag; Pro-Ciénaga; Univ. del Atlántico; Univ. del Magdalena; Granja La Katia. Santa Marta. 388p.+anexos.

Windell, J.T.; Foltz, J.W. y Sardkon, J.A. 1978. Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies. Prog. Fish Cult. 40(2): 51-55.

Zeitoun, I.H.; Ullrey D.E.; Magee W.T.; Gill J.L.; y Bergen, W.G. 1976. Quantifying nutrient requirements of fish. J. Fish. Res. Board. Can. 33: 167-172.

Zhou, Q.; Tan B.; Mai, K y Liu. Y. 2004. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. Aquaculture. 241(1-4) :441-451.

ANEXOS

Anexo A. Formulario para registro de parámetros físico-químicos (diario y quincenal).

Fecha: _____

No. tanque	T (Tratamientos) Replica	Temperatura °C	Oxígeno (mg/l)	pH
1	T(1)1			
2	T(1)2			
3	T(1)3			
4	T(2)1			
5	T(2)2			
6	T(2)3			
7	T(3)1			
8	T(3)2			
9	T(3)3			
10	T(4)1			
11	T(4)2			
12	T(4)3			
13	T(5)1			
14	T(5)2			
15	T(5)3			
16	T(6)1			
17	T(6)2			
18	T(6)3			
19	T(7)1			
20	T(7)2			
21	T(7)3			

Observaciones: _____



Anexo B. Formulario para el registro del alimento consumido diariamente en cada replica y su respectivo tratamiento.

Fecha: _____

T(Tratamiento)Replica*	No. Tanque	Peso alimento inicial (g)	Peso alimento final (g)	Alimento consumido (g)
T(1)1	1			
T(1)2	2			
T(1)3	3			
T(2)1	4			
T(2)2	5			
T(2)3	6			
T(3)1	7			
T(3)2	8			
T(3)3	9			
T(4)1	10			
T(4)2	11			
T(4)3	12			
T(5)1	13			
T(5)2	14			
T(5)3	15			
T(6)1	16			
T(6)2	17			
T(6)3	18			
T(7)1	19			
T(7)2	20			
T(7)3	21			

Observaciones: _____

Anexo C. Formulario para el registro de peso y talla realizado durante las biometrías quincenales.

Fecha: _____

Biometría No. _____

Tratamiento	Tanque	Replica	Nº peces	Peso (g)	Talla (cm)
T1		1	1		
T1		1	2		
T1		1	3		
T1		1	4		
T1		1	5		
T1		1	6		
T1		1	7		
T1		1	8		
T1		2	1		
T1		2	2		
T1		2	3		
T1		2	4		
T1		2	5		
T1		2	6		
T1		2	7		
T1		2	8		
T1		3	1		
T1		3	2		
T1		3	3		
T1		3	4		
T1		3	5		
T1		3	6		
T1		3	7		
T1		3	8		
T2		1	1		
T2		1	2		
T2		1	3		
T2		1	4		
T2		1	5		
T2		1	6		
T2		1	7		
T2		1	8		
T2		2	1		
T2		2	2		
T2		2	3		
T2		2	4		
T2		2	5		
T2		2	6		
T2		2	7		

Continuación Anexo C

Tratamiento	Tanque	Replica	Nº peces	Peso (g)	Talla (cm)
T2		2	8		
T2		3	1		
T2		3	2		
T2		3	3		
T2		3	4		
T2		3	5		
T2		3	6		
T2		3	7		
T2		3	8		
T3		1	1		
T3		1	2		
T3		1	3		
T3		1	4		
T3		1	5		
T3		1	6		
T3		1	7		
T3		1	8		
T3		2	1		
T3		2	2		
T3		2	3		
T3		2	4		
T3		2	5		
T3		2	6		
T3		2	7		
T3		2	8		
T3		3	1		
T3		3	2		
T3		3	3		
T3		3	4		
T3		3	5		
T3		3	6		
T3		3	7		
T3		3	8		
T4		1	1		
T4		1	2		
T4		1	3		
T4		1	4		
T4		1	5		
T4		1	6		
T4		1	7		
T4		1	8		
T4		2	1		



Continuación Anexo C

Tratamiento	Tanque	Replica	Nº peces	Peso (g)	Talla (cm)
T4		2	2		
T4		2	3		
T4		2	4		
T4		2	5		
T4		2	6		
T4		2	7		
T4		2	8		
T4		3	1		
T4		3	2		
T4		3	3		
T4		3	4		
T4		3	5		
T4		3	6		
T4		3	7		
T4		3	8		
T5		1	1		
T5		1	2		
T5		1	3		
T5		1	4		
T5		1	5		
T5		1	6		
T5		1	7		
T5		1	8		
T5		2	1		
T5		2	2		
T5		2	3		
T5		2	4		
T5		2	5		
T5		2	6		
T5		2	7		
T5		2	8		
T5		3	1		
T5		3	2		
T5		3	3		
T5		3	4		
T5		3	5		
T5		3	6		
T5		3	7		
T5		3	8		
T6		1	1		
T6		1	2		
T6		1	3		

Continuación Anexo C

Tratamiento	Tanque	Replica	Nº peces	Peso (g)	Talla (cm)
T6		1	4		
T6		1	5		
T6		1	6		
T6		1	7		
T6		1	8		
T6		2	1		
T6		2	2		
T6		2	3		
T6		2	4		
T6		2	5		
T6		2	7		
T6		2	8		
T6		3	1		
T6		3	2		
T6		3	3		
T6		3	4		
T6		3	5		
T6		3	6		
T6		3	7		
T6		3	8		
T7 - Control		1	2		
T7 - Control		1	3		
T7 - Control		1	4		
T7 - Control		1	5		
T7 - Control		1	6		
T7 - Control		1	8		
T7 - Control		2	1		
T7 - Control		2	2		
T7 - Control		2	3		
T7 - Control		2	4		
T7 - Control		2	5		
T7 - Control		2	6		
T7 - Control		2	7		
T7 - Control		2	8		
T7 - Control		3	1		
T7 - Control		3	2		
T7 - Control		3	3		
T7 - Control		3	4		
T7 - Control		3	5		
T7 - Control		3	6		
T7 - Control		3	7		
T7 - Control		3	8		