

**Evaluación de variables de calidad en Tilapias (*Oreochromis* sp)
alimentadas con probióticos nativos microencapsulados**

Eliana Marcela Betancur González

**Trabajo de grado para optar por el título de Magister en Gestión de la
Calidad de los Alimentos**

Asesora

**Luz Adriana Gutiérrez
Dr Sci en Biotecnología**

**Corporación Universitaria Lasallista.
Facultad de ingeniería
Maestría en Gestión de Calidad de los alimentos
Caldas-Antioquia**

2018

Agradecimientos

Agradezco a Dios por guiar mi vida por caminos que solo él entiende

A mi familia por su apoyo incondicional siempre.

Gracias a mi tutora la profesora Luz Adriana Gutiérrez, por confiar en mi, brindarme siempre su apoyo y motivarme a mejorar cada día.

Gracias al profesor Carlos Arturo David a quien admiro y por quien siento un profundo respeto.

Gracias a mis amigos: Yamile Gallego y Juan David, porque siempre están ahí cuando más los necesito, siempre dispuestos.

Y Gracias a cada una de las personas que hicieron posible la culminación de este proyecto.

Contenido

Resumen	9
Introducción	10
Marco teórico	13
Causas de las pérdidas en las granjas piscícolas	13
Manejo y control de las enfermedades.....	14
Consecuencias del uso de antibióticos	14
Características generales de la tilapia <i>Oreochromis</i> sp	14
Control y normas sanitarias en el cultivo de tilapia	15
Calidad.....	18
Inocuidad.....	18
Objetivo general	21
Introducción	22
Objetivo desarrollado	23
Metodología	23
Material biológico	24
Calidad del agua	25
Análisis microbiológico	26
Criterios microbiológicos.....	28
Resultados.....	29
Calidad del agua	29
Condiciones sanitarias y del manejo, la calidad y la inocuidad del cultivo	30
Discusión.....	33
Conclusiones.....	35
Introducción	36
Métodos sensoriales	37
Objetivo desarrollado	38
Metodología	38
Análisis de la calidad nutricional	38
Análisis sensorial.....	39
Resultados	40
Discusión.....	45
Conclusiones.....	47
Introducción	48
Objetivos desarrollados.....	49
Metodología	49
Material biológico	50
Cepas probióticas utilizadas microencapsuladas	50
Las dietas y la alimentación.....	51
Parámetros zootécnicos	52
Análisis estadístico	53

Análisis de la bioquímica sanguínea	54
Comparación de los epitelios intestinales de las tilapias alimentadas con y sin probióticos	55
Parámetros zootécnicos.....	57
Alimentación con los probióticos encapsulados incluidos en el pellet de la dieta de los estadios desde 0 a 40 días.....	57
Análisis de bioquímica sanguínea de la tilapias en estudio	69
Comparación de los epitelios intestinales de las tilapias.	70
Discusión.....	73
Conclusiones.....	76

Lista de tablas

Tabla 1. Requerimiento de la calidad del agua para la tilapia roja (<i>Oreochromis</i> sp)	26
Tabla 2. Productos de la pesca, en particular pescados, moluscos y crustáceos frescos ultracongelados y congelados crudos.....	28
Tabla 3. Productos de la pesca, en particular pescados, moluscos y crustáceos pasteurizados o cocidos.....	28
Tabla 4. Análisis de Varianza para Colimetría.....	30
Tabla 5. Análisis de Varianza para Mesófilos.....	30
Tabla 6. Análisis de Varianza para <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Tabla 7. Análisis de Varianza para Levaduras	31
Tabla 8. Análisis fisicoquímico para filete de tilapia suplementado con y sin probióticos.....	40
Tabla 9. Evaluación sensorial del pescado cocinado	41
Tabla 10. Resumen de las opciones seleccionadas.....	43
Tabla 11. Pruebas de discriminación sensorial	43
Tabla 12. Parámetro estimado (modelo de Thurstonian / Clopper-Pearson)	43
Tabla 13. Formulación de la dieta para tilapia con 45% p/v de proteína y del 86% de digestibilidad	51
Tabla 14: Análisis de Varianza para peso entre el tanque B3 y B6.....	57
Tabla 15: Análisis de Varianza para peso entre el tanque B4 y B5.....	58
Tabla 16: Análisis de Varianza para peso (a) y talla (b) entre los tratamientos con y sin probióticos	59
Tabla 17. Número de las tilapias en cada tanque al inicio del experimento y el % de vivos por tanque hasta los 40 días.....	60
Tabla 18. Parámetros zootécnicos aplicados a cada población alimentada con y sin probióticos hasta los 40 días del ensayo.....	61
Tabla 19. Análisis de varianza para pesos de juveniles de la tilapia entre 10 hasta los 100 gr	61
Tabla 20. Análisis de varianza para la talla de juveniles de tilapia	61
Tabla 21. Análisis de varianza para los pesos de la tilapia en estadio de preceba con pesos entre 100 a 150 gramos.....	63
Tabla 22. Análisis de varianza para la talla de tilapia en estadio de preceba	64
Tabla 23. Análisis de varianza para los pesos de la tilapia en la etapa de ceba después de obtener un peso de 150 gramos.....	64
Tabla 24. Análisis de varianza para la talla de la tilapia en estadio de ceba.....	64
Tabla 25. Parámetros zootécnicos medidos en la etapa de juveniles, alimentados con y sin probióticos.....	66
Tabla 26. Parámetros zootécnicos aplicados a la etapa de la preceba, y alimentados con y sin probióticos	66
Tabla 27. Parámetros zootécnicos aplicados a la etapa de ceba, alimentados con y sin probióticos	67

Tabla 28. Parámetros zootécnicos medidos a las tilapias alimentadas con y sin probióticos a partir de 40 días hasta la etapa de ceba.....	67
Tabla 29. Parámetros zootécnicos medidos a las tilapias alimentadas con y sin probióticos desde los 0 días hasta la etapa de ceba.....	68
Tabla 30. Bioquímica sanguínea de las tilapias alimentadas con concentrado suplementado con probióticos y sin probióticos	69
Tabla 31. Análisis de varianza para la medida longitudinal de la cresta a 40X	70
Tabla 32. Análisis de varianza para la medida de la amplitud de la cresta a 40X .	71

Lista de gráficos

Gráfico 1. Parámetros fisicoquímicos tomados en los tanques de tratamiento durante la investigación.....	29
Gráfico 2: Recuento de colimetría en el tiempo.....	32
Gráfico 3. Promedio de pesos de las tilapias en el tratamiento con y sin probióticos	60
Gráfico 5. Media para los pesos de la tilapia en etapa de ceba	65
Gráfico 6. Media para las tallas de las tilapias en etapa de ceba.....	65
Gráfico 7. Media de la amplitud de la cresta de las tilapias suplementadas con probiótico y sin probiótico observadas a 40X	71
Gráfico 8. Media longitudinal de la cresta de las tilapias suplementadas con probiótico y sin probiótico observadas a 40X	72

Lista de fotografías

Fotografía 1. Punción cardiaca a tilapia para extracción de sangre.....	54
Fotografía 2. Incorporación de sangre obtenida de las tilapias en los tubos para análisis	55
Fotografía 3. Diferencia de tamaño en las crestas intestinales de las tilapias suplementadas con y sin probioticos.	72

Resumen

Las nuevas tendencias en la producción piscícola están enfocadas en la calidad y en la inocuidad alimentaria que promuevan no sólo el bienestar animal, sino también el mejoramiento de la canal, es por esto, que el uso de los antibióticos cada vez es más restringido y la búsqueda de alternativas de reemplazo son extensivas. Por tanto, se planteó en este estudio evaluar la calidad higiénico-sanitaria de la tilapia (*Oreochromis* sp), suplementada con un consorcio de microorganismos probióticos nativos microencapsulados. **Metodología:** se dividieron dos poblaciones de peces de tilapia (*Oreochromis* sp) en cuatro tanques (B3 y B6) alimentados con una dieta comercial más un consorcio de probióticos (*Bacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium* y *Lactobacillus delbrueckii sub bulgaricus*) a una concentración de 1×10^5 UFC/ g y en los otros tanques (B4 y B5) la dieta sin probióticos, a ambos grupos se les evaluó, variables zootécnicas, calidad nutricional, calidad microbiológica e higiénica; además de realizarles análisis morfométricos de las medidas de las crestas intestinales de ambos grupos a los 5 meses de producción **Resultados:** no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la calidad microbiológica entre ambos grupos, sin embargo si se encontraron diferencias en las variables zootécnicas, los análisis morfométricos y los análisis sensoriales, infiriendo que el consumo de probióticos mejoran estas variables en cultivos de tilapia.

Palabras clave: Probióticos, microencapsulación, dieta, tilapia

Introducción

Aunque Colombia cuenta con una política sanitaria y de inocuidad para las cadenas láctea y cárnica (Conpes 3676, 2010) y se ha estado implementando el Plan Nacional de Residuos de Medicamentos Veterinarios y Contaminantes Químicos para la carne, estos sistemas aun no reportan oficialmente la situación (Lozano María & Arias Diana, 2008), este llamado se ha hecho colectivo en diferentes países donde se producen alimentos para el consumo humano, el objeto es producir alimentos libres de cualquier característica que ponga en riesgo la salud de los consumidores (García & Calvario, 2013).

De esta forma, la acuicultura se encuentra sujeta a la aplicación de las nuevas regulaciones y a cambios en las legislaciones internacionales relacionadas con la producción de alimentos aptos para el consumo humano. Es por esto que durante el proceso de cultivo se debe evitar la presencia de los peligros biológicos (bacterias, virus, parásitos) y de los químicos (residuos de medicamentos veterinarios, plaguicidas, metales pesados y toxinas) que afecten la integridad del producto (García & Calvario, 2013, 27), llevando un control a lo largo de toda la cadena productiva, integrando las actividades de producción con las del procesamiento, para la prevención de posibles problemas con la calidad e inocuidad de los productos acuícolas (García & Calvario, 2013).

En este sentido, en 1997, la Organización Mundial de la Salud recomendó prohibir el uso de antibióticos para promover el crecimiento de los animales. En 1998, los países miembros de la Comunidad Europea suprimieron los registros de los antibióticos bacitracina, espiramicina, virgimicina y fosfato de tilosina como aditivos de alimentos para animales, y por decreto señalaron que los antimicrobianos solo pueden administrarse con fines terapéuticos bajo la prescripción del médico veterinario. (Ventura, 2015)

En el año 2015 nuevamente la Unión Europea planteó las directrices para una utilización prudente de los antimicrobianos en la medicina veterinaria (Ventura, 2015).

En el mismo año, la Food and Drugs Administration (FDA) de Estados Unidos, definió nuevas normas para la utilización de los antibióticos, con el objetivo de controlar el crecimiento de las resistencias antimicrobianas a estas sustancias terapéuticas. Aunque, en el 2013 la FDA ya había hecho el llamado de forma oficial a que, voluntariamente, se dejase de utilizar antibióticos como promotores de crecimiento y que todos los que fueran utilizados estuviesen prescritos por los médicos veterinarios. Un año antes, en el 2012, este organismo oficial ya había mostrado su intención de restringir el uso de ciertos antimicrobianos, fundamentalmente las cefalosporinas (Ventura, 2015).

Todo lo anterior indica, que la resistencia que generan los antimicrobianos en el organismo, no es sólo un problema económico y de salud animal que reduce la eficacia del tratamiento en los animales, sino también, un problema de salud pública debido a la transmisión de las bacterias resistentes a los antimicrobianos a través de la cadena alimentaria y la transmisión de la resistencia de las bacterias de los animales a las bacterias de los seres humanos (Comisión de las Comunidades Europeas, 2015). Debido a las limitaciones que tiene el uso de los antibióticos, ha sido necesario buscar productos más limpios, seguros e inocuos. Por tal motivo, se inició una búsqueda de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento, y se postularon los probióticos como una alternativa viable, por ser un producto natural y sin riesgo para la salud del consumidor final (Gutiérrez, Montoya, & Zea Vélez, 2013).

Por otra parte, es importante que en las unidades donde se produce alimento de origen animal, se implementen las Buenas Prácticas de Producción (BPP) para el mejoramiento continuo cumpliendo con estándares internacionales de calidad e inocuidad (ICONTEC, 2014).

Este estudio, se planteó con el objeto de evaluar la calidad de la tilapia (*Oreochromis* sp), suplementada con un consorcio de probióticos nativos microencapsulados, evitando el uso de antibióticos como promotores de crecimiento, mejorando las condiciones de la calidad higiénico-sanitarias de los peces y determinando en su proceso productivo variables zootécnicas, bienestar animal y la calidad nutricional y la sensorial

Marco teórico

La acuicultura es el conjunto de técnicas adecuadas para el cultivo de especies hidrobiológicas en los ambientes naturales o en los artificiales obteniendo el control total de estas. Actualmente, en Colombia se han implementado sistemas y tecnologías para incrementar los rendimientos del cultivo acuícola, volviéndolo un mercado potencial y objetivo, en cuanto a las exportaciones de productos piscícolas para el consumo humano. En los últimos diez años, ha generado que el sector acuícola se destaque por su innovación en el desarrollo tecnológico, generando diversificación agropecuaria que da mayor rentabilidad. Tomado de <https://sistemasacuicolas.com/importancia-acuicultura-colombia/> 2107

Causas de las pérdidas en las granjas piscícolas

Los peces son susceptibles a las enfermedades, en cualquier tipo de hábitat. Sin embargo, las enfermedades tienen mayor incidencia en la piscicultura que en las cuencas hídricas naturales, debido a la densidad a la cual son sometidos los peces en la producción, generando mortalidades masivas en la explotación y pérdidas económicas importantes a los productores; especialmente, en las fases de cría y alevinaje (FAO, 2011).

Desde el año 2011 la FAO, ha generado procedimientos de prevención y control de las enfermedades que potencialmente limitan la producción, en aras de la calidad y sanidad del cultivo (FAO, 2011). En la mayoría de los casos, en las granjas piscícolas, las enfermedades están asociadas a las practicas sub-óptimas de tipo nutricional, subalimentación por cantidad o calidad, por toxicidad que genera stress en los organismos; ya sea: por el manejo inadecuado de los alimentos o por las densidades de cultivo inadecuadas, las cuales disminuyen la barrera de defensa del animal, apareciendo las enfermedades originadas por los virus, las bacterias, los hongos y los parásitos; sin contar otras de tipo físico-químicas: Intervalos inadecuados de los parámetros ambientales como la

temperatura, el nivel de oxígeno disuelto; el pH, la concentración de sólidos suspendidos, la concentración de los compuestos nitrogenados entre otras, (FAO, 2011).

Manejo y control de las enfermedades

Desde décadas pasadas los antibióticos han sido la forma para prevenir enfermedades protegiéndolos contra infecciones, mejorando la conversión alimentaria del animal, y promoviendo el crecimiento de ellos. Sin embargo, su empleo como aditivo alimentario fue prohibido por la Unión Europea desde enero del 2006, situación que llevó a la búsqueda de otras alternativas de reemplazo a estos, como los probióticos (Guevara, 2011).

Consecuencias del uso de antibióticos

Según la FAO (2002) se debe tener presente el LMR (Límite Máximo de Residuos), que define el nivel máximo de residuos de cualquier componente de una droga veterinaria que pueda estar presente en los alimentos de origen animal sin que estos niveles signifiquen un peligro para el consumidor. La definición de la Unión Europea es prácticamente la misma a la establecida por el Comité de Residuos de Drogas Veterinarias en Alimentos del Codex Alimentarius.

Características generales de la tilapia *Oreochromis sp*

En Colombia, las especies de peces más cultivadas y de mayor interés comercial son la tilapia roja (*Oreochromis sp.*), la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) y la tilapia negra (*Oreochromis mossambicus*) (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2014, 21).

La tilapia roja (*Oreochromis sp.*) es un híbrido resultante del cruce de varias especies del género *Oreochromis* originarias de África e Israel, la cual posee características zootécnicas especiales que le proporcionan ventajas frente a otras especies (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2014, 21).

Dentro de las principales características que se tienen en cuenta para la elección de la tilapia está su curva de crecimiento rápido, sus hábitos alimenticios adaptados a dietas suplementarias, su tolerancia a las altas densidades de siembra, la tolerancia a condiciones extremas como resistencia a concentraciones bajas de oxígeno, a los niveles altos de amonio y los valores bajos de pH. Por lo anterior, es una especie de fácil manejo ya que tiene resistencia a la manipulación en siembra, a las transferencias, cosechas y al manejo de reproductores, considerando además que genera buenos parámetros de producción (conversión alimenticia, ganancia de peso) y además, es más resistente a las enfermedades que otras especies de producción, lo que le permite mostrar mayor sobrevivencia y mayor rentabilidad durante su producción (Saavedra Martínez, 2006, 1).

Control y normas sanitarias en el cultivo de tilapia

Aunque, la tilapia es una especie muy resistente a las enfermedades deben seguirse algunos controles y normas para evitar problemas de orden sanitario. Entre ellos, se tienen: Mantener estabilidad de las condiciones ambientales, conocer las densidades de siembra, eliminar predadores y/o competidores, mantener siempre el suministro principal de agua, realizar limpieza diaria de filtros, controlar entradas y salidas de agua, no permitir una turbidez menor a 20 cm de visibilidad (Saavedra Martínez, 2006). Además, implementar el uso de los microorganismos que mejoren la calidad del agua, como son los probióticos, que al digerir el lodo orgánico, reducen los sólidos de fondo, convirtiéndolo en elementos de fácil descomposición, debido a que contienen grupos de bacterias agresivas en digestión y enzimas especializadas que logran acelerar la eliminación de los desechos de la especie en cultivo, residuos de plancton y alimento no consumido (Cuadro, 2010).

Importancia de los probióticos en la salud animal y en la calidad del cultivo de tilapia

La FAO (2003) define a los probióticos como microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del huésped (Cruz, 2013). Los probióticos además de ser caracterizados como organismos inocuos también tienen la categorización GRAS (Generalmente Reconocidos como Seguros) (Guevara, 2011). En la actualidad, se encuentran en el mercado preparaciones de probióticos, que se utilizan como aditivos alimenticios y que se han incorporado directamente en la alimentación de cultivos de peces, de camarones y de moluscos, determinando que proporcionan salud, bienestar y un aumento de los parámetros zootécnicos como es la ganancia en peso y la conversión alimentaria, entre otros (Mohapatra, Chakraborty, Kumar, Deboeck, & Mohanta, 2013, 1).

La mayoría de los probióticos pertenecen a los géneros de *Lactobacillus* sp, *Lactococcus* sp, *Carnobacterium* sp, *Pediococcus* sp, *Enterococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Vibrio* (*Vibrio alginolyticus*) y *Bacillus* sp (Gutierrez Ramirez, 2016, 7).

Estas bacterias utilizan varios mecanismos para generar impactos positivos en la salud de los peces; entre los que se citan la exclusión competitiva de bacterias patogénicas, ya que los probióticos tienen la facultad de competir con otras poblaciones por los sitios de adhesión al epitelio intestinal, favoreciendo la disminución de los microorganismos patógenos presentes en el intestino (Mohapatra *et al.*, 2013)(Martínez Cruz *et al.* 2012), son fuente de nutrientes y contribuyen a la digestión al sintetizar enzimas, potencian la respuesta inmune contra los microorganismos patógenos, y mejoran la calidad del agua (Gutierrez Ramirez, 2016).

De esta manera, los probióticos al ser ingeridos y pasar por el tracto gastrointestinal, promueven el balance intestinal en beneficio del organismo hospedero, usando una serie de enzimas digestivas para su nutrición, y un sistema de defensa que ayuda a la digestión de la materia orgánica y proteínas,

favoreciendo la absorción de los nutrientes, y de los minerales como el zinc, el potasio y el cobre, mejorando el sistema inmune, el crecimiento y la salud (Kechagia *et al.*, 2013)(Milenković *et al.*, 2011)(López-Acevedo, Aguirre-Guzmán, & Vázquez-Sauceda, 2013)

En los humanos y en los animales, los probióticos se han usado comúnmente como suplementos alimenticios, con el propósito de alterar la microbiota intestinal, aumentando la población microbiana benéfica del tracto gastrointestinal y mejorando el consumo de los alimentos y su digestión (Montes Ramírez, 2013). La inclusión de los probióticos en el alimento o en el agua ha demostrado tener un efecto favorable en el bienestar del animal, ya que influye en la resistencia a infecciones por los agentes patógenos mejorando la inmunidad, lo que genera disminución en la mortalidad, además, que mejora la calidad del agua y por ende el cultivo en general (Geiger 2001).

Micro encapsulación de los probióticos

Microencapsular es cubrir con material encapsulante, las sustancias sólidas, gotas líquidas o en forma de gases, o los microorganismos y de esta forma se da lugar a la formación de microcápsulas de tamaños que oscilan de 1-100 μm (Cook, Tzortzis, Charalampopoulos, & Khutoryanskiy, 2012). Una microcápsula consiste en una membrana semipermeable, esférica, delgada y fuerte alrededor de un centro solido/líquido (Gutierrez Ramirez, 2016).

Se puede utilizar la microencapsulación para permitir la viabilidad de los microorganismos probióticos, dentro de una matriz alimentaria, la cual normalmente no cumple con la condición prebiótica que necesita el microorganismo para asegurar su sobrevivencia, de tal manera que llegue activo y viable al intestino, (Montes Ramírez, 2013)(Gutierrez Ramirez, 2016).

Para microencapsular se requiere normalmente polisacáridos como el agar agar, la carragenina, la goma arábiga, el quitosano, los dextranos, el almidón, la maltodextrina, la celulosa, el alginato de sodio y los oligosacáridos, entre otros

(Gutierrez Ramirez, 2016). Algunos oligosacáridos como el jarabe de maíz, la sucrosa y la maltodextrina se utilizan frecuentemente como agente protector a las altas temperaturas y como agente estimulante del crecimiento de los probióticos (Riaz & Masud, 2013). Además, del agente encapsulante también se emplean sustancias prebióticas como la inulina y los oligofruktanos (Gutiérrez Ramírez, 2016), los cuales mantienen la integridad del microorganismo (Riaz & Masud, 2013).

Calidad

La Organización Internacional de Normalización (ISO), federación mundial de organismos nacionales de normalización, define la "calidad" como la "totalidad de los rasgos y las características de un producto o servicio que tienen repercusiones sobre su capacidad para satisfacer unas necesidades explícitas o implícitas" (ISO 8402). La calidad del pescado y de los productos pesqueros depende principalmente de una producción y posterior manipulación inocua e higiénica (FAO, 2016).

Inocuidad

Los peligros más importantes para la inocuidad de los alimentos se suelen definir como los agentes biológicos, químicos o físicos presentes en el pescado y los productos pesqueros, o una propiedad de estos, que pueden provocar efectos nocivos para la salud de los consumidores, entre los que cabe citar:

- ✓ Intoxicaciones alimentarias producidas por bacterias patógenas, virus, hongos o toxinas naturales, entre ellas las neurotoxinas y las micotoxinas.
- ✓ Enfermedades crónicas por plaguicidas, otras sustancias químicas, metales pesados o parásitos
- ✓ Presencia de residuos de antibióticos en la carne (FAO, 2003).

De acuerdo al Codex Alimentarius el concepto de “inocuidad” es la garantía de que un alimento no causará daño al consumidor cuando sea preparado o ingerido de acuerdo con el uso al que se destine. Esto significa que el alimento preparado en forma inocua será sano y no producirá enfermedad en el consumidor, es decir, que la materia o materias primas utilizadas no producirán enfermedades. Según el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), un alimento inocuo es aquel que no causa efectos nocivos en la salud del consumidor (Villanueva, Cardona, Garzón, & Barbosa, 2007).

Calidad e inocuidad del pescado

Los alimentos de consumo humano deben ser inocuos, es decir, que no contengan agentes físicos, ni químicos y/o biológicos en niveles o de naturaleza tal, que pongan en peligro la salud. De esta manera se concibe la inocuidad como un atributo fundamental de la calidad (Tafur Garzón, 2009).

Evolución de la inspección del pescado basada en los procesos

Anteriormente, la preocupación por la inocuidad del pescado y los productos pesqueros formaban parte de los sistemas de control o de garantía de la calidad del pescado, cuya finalidad era asegurar que el consumidor adquiriera pescado de calidad adecuada, y que no estuviese adulterado; sin embargo, estos sistemas se soportaron en la inspección y vigilancia de los productos finales, que pueden ser difíciles de gestionar, costosos de aplicar y poco fiables a la hora de evitar riesgos para la inocuidad de los alimentos. La FAO propuso un enfoque preventivo basado en la cadena alimentaria (FAO, 2003), promoviendo la reforma a los sistemas de inspección del pescado, abandonando el muestreo e inspección de los productos finales para aplicar sistemas preventivos de inocuidad y calidad basados en el Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP) y centrados en los procesos (FAO, 2009).

Importancia de los procesos de la Calidad e Inocuidad Alimentaria

Durante el siglo XIX y XX, se aumentaron los brotes generados por los alimentos que no cumplían con las demandas de la calidad que se exigían para el consumo humano denominadas la Enfermedades Trasmitidas por Alimentos. A finales de los años ochenta, las autoridades de salud pública iniciaron nuevos sistemas relacionados con la producción alimentaria que se inicia desde la recolección, la elaboración y la distribución de los productos pesqueros, de este proceso se desarrolló el sistema del Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP) en el cual, cada microorganismo, o condición del alimento que pueden causar una enfermedad se denomina un "peligro" (FAO, 2000).

El sistema HACCP, se basa en la determinación de los riesgos físicos, químicos y biológicos, minimizándolos a través de la concepción y la disposición del entorno físico en el que puedan asegurarse unos elevados niveles de higiene, establece unas normas que pueden medirse y unos sistemas de seguimiento, además, establece procedimientos para verificar que el sistema funciona con eficacia (FAO, 2016).

Un programa de control basado en el sistema HACCP, enfatiza el rol de la industria en la prevención de los peligros desde la captura o cosecha hasta que el producto llega al consumidor, asegurando la calidad e inocuidad mediante el incremento de las Buenas Practicas de Manejo (BPM) (Villanueva *et al.*, 2007).

La producción de peces para el consumo humano, requiere que todas las actividades antes, durante y después de la misma estén encaminadas hacia la obtención de productos de calidad sanitaria e inocuos. Por tanto, es necesario aplicar los principios de BPM en todos los eslabones de la producción de la cadena alimentaria (Villanueva *et al.*, 2007).

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la calidad higiénico-sanitaria de la tilapia (*Oreochromis* sp), suplementada con un consorcio de probióticos nativos microencapsulados.

Objetivos específicos

- ✓ Evaluar variables sanitarias en el agua y en la canal de tilapia (*Oreochromis* sp) tanto en los animales suplementados con probióticos como en los no suplementados.
- ✓ Determinar la calidad nutricional y sensorial de las tilapias (*Oreochromis* sp) suplementadas con probióticos y compararlos con el lote no suplementado.
- ✓ Comparar algunas variables zootécnicas como ganancia en peso, ganancia en talla, conversión alimentaria, y tasa de crecimiento específico, además, del bienestar animal entre los lotes suplementados y no suplementados con los probióticos.

CAPITULO 1

Variables de la calidad sanitaria y microbiológica en el cultivo de tilapia (*Oreochromis* sp) suplementada con probióticos

Introducción

La tilapia roja o mojarra roja (*Oreochromis* sp) es un híbrido resultante del cruce de varias especies del género *Oreochromis* originarias de África e Israel, con características especiales frente a otras especies (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2014). Lo que ha estimulado a los productores e investigadores a iniciar un acelerado e incontrolado programa de hibridación es la coloración de la tilapia, que ha permitido la obtención de nuevas líneas (strain) con rasgos importantes entre ellas la resistencia a la manipulación (Castillo, 2011).

La intensificación de esta y otras especies ha permitido que se produzca mayor cantidad de animales en unidades de áreas más pequeñas. Sin embargo, dicha intensificación y comercialización acuícola permite que aparezcan enfermedades e infecciones que se convierten en un problema para el cultivo de la tilapia (Naranjo, Gutiérrez, & David, 2015). Los antibióticos han sido la forma de contrarrestar las infecciones bacterianas, pero su uso desmedido ha generado consecuencias que van desde la acumulación de estos en los tejidos de los animales, la supresión inmune, hasta el desarrollo de bacterias antibiótico multirresistentes, además, del daño en la microbiota ambiental e intestinal (Trujillo *et al.*, 2017).

En el documento (Conpes 3676 2010) se explicita la política sanitaria y de inocuidad para la cadena láctea y la cárnica, para Colombia, promoviendo en ella, el plan nacional de residuos de medicamentos veterinario y contaminantes químicos para la carne, sin embargo, se desconoce la situación actual con el pescado. Este llamado se ha hecho colectivo en diferentes países donde se

producen alimentos para el consumo humano, el objeto es producir alimentos libres de cualquier característica anormal que ponga en riesgo la salud de los consumidores (García & Calvario, 2013). Se debe evitar la presencia de los peligros biológicos (bacterias, virus, parásitos) y de los químicos (residuos de medicamentos veterinarios, plaguicidas, metales pesados y toxinas) que afecten la integridad del producto (García & Calvario, 2013).

En 1997, la OMS recomendó prohibir el uso de antibióticos para promover el crecimiento de los animales y la FDA de Estados Unidos definió nuevas normas para la utilización de los antibióticos, con el objetivo de controlar el crecimiento de las resistencias bacteriana a estas sustancias terapéuticas (Ventura, 2015).

Todo lo anterior indica, que la resistencia que generan los antibacterianos en el organismo, no es sólo un problema económico y de salud animal, también es un problema de salud pública debido a la transmisión de las bacterias resistentes a los antibióticos a través de la cadena alimentaria (Comisión de las Comunidades Europeas, 2015). Por esta razón, y debido a las limitaciones que tiene el uso de antibióticos, ha sido necesario buscar una forma de contrarrestar este efecto, una de las alternativas preventivas y terapéuticas es el empleo de las cepas probióticas, las cuales generan múltiples beneficios sobre el bienestar animal y la producción animal (Gutiérrez *et al.*, 2013)

Objetivo desarrollado

Evaluar variables sanitarias en el agua y en la canal de la tilapia (*Oreochromis* sp) tanto en los animales suplementados con probióticos como en los no suplementados (Capítulo I).

Metodología

Todo el desarrollo experimental para el cumplimiento de este objetivo se realizó en el laboratorio de investigación en acuicultura de la Corporación Universitaria Lasallista, ubicada en el municipio de Caldas, Antioquia, Colombia, bajo las

condiciones del sistema de recirculación (RAS) y las evaluaciones microbiológicas se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la misma institución.

- **Microencapsulación y viabilidad de los microorganismos**

Los aislados probióticos fueron las cepas 0019BL, 0018B y 0013B, correspondientes a *L. delbrueckii* sub *bulgaricus*, *Bacillus megaterium* y *Bacillus polymyxa*, previamente purificados y caracterizados en el trabajo realizado por (Gutierrez Ramirez, 2016), se conservaron en glicerol al 15% y se almacenaron a -80°C. Las cepas se tomaron en concentraciones de 3×10^9 UFC/mL según el patrón Mc. Farland 10, cada una en un volumen final de 100 ml. Este protocolo se realizó para cada una de las cepas bacterianas.

Una vez se tenían los volúmenes y las concentraciones de cada microorganismo estas se mezclaban en partes iguales y la solución final se ajustaba con maltodextrina e inulina, agentes microencapsulantes, la preparación se homogeneizó a 4000 rpm durante 10 minutos, alimentando el spray dry, el cual estuvo en condiciones de entrada de aire entre 90-140°C, un porcentaje de aspiración entre el 50% y 90%, flujo de aire 450-565 L/h y flujo de alimentación 6mL/minuto. El material microencapsulado fue colectado, sellado y almacenado a temperatura ambiente. Para evitar contaminación sobre el equipo, se inicia aspirando agua a T° de 145°C durante 3 minutos.

La evaluación de viabilidad de los microorganismos se realizó mediante técnicas microbiológicas convencionales en medios de cultivos específicos para cada uno de los microorganismos empleados, encontrando que el spray dry disminuye en tres unidades logarítmicas la viabilidad de los microorganismos (Gutierrez Ramirez, 2016).

Material biológico

Al iniciar el experimento se distribuyeron en cuatro tanques de a 185 alevinos de tilapia roja (*Oreochromis* sp) para un total de 740 animales con peso inicial promedio de 0,45 gr/pez, Se establecieron dos tratamientos con dos repeticiones,

el primer tratamiento correspondió al control sin adición de probióticos en el alimento (tanques B4 y B5), y el segundo tratamiento con adición de los probióticos *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, *Bacillus megaterium* y *Bacillus polymyxa* (tanques B3 y B6), los cuales fueron aislados en un estudio anterior (Naranjo *et al.*, 2015), el día 10 del experimento por fallas en el sistema RAS se originó la muerte de 109 animales, quedando 631 alevinos, distribuidos en los 4 tanques, bajo estas condiciones se continuó el experimento.

Los probióticos administrados fueron microencapsulados e incluidos dentro del pellet de 2mm de tamaño promedio, en una proporción de 1% que equivalen a 40 g de probiótico para 4 kg de mezcla preparada y a una concentración final de $1,2 \times 10^5$ UFC/g, de cada una de las especies de probióticas empleadas para este ensayo. Cabe anotar que estas condiciones se mantuvieron hasta el día 40 del estudio, alcanzando las tilapias la etapa de juvenil.

Para continuar con los ensayos a partir del día 40, los probióticos fueron aspersados sobre el alimento manteniendo siempre la concentración 1% a razón de 10 g por cada kg de mezcla, hasta la etapa final de cultivo.

La cantidad de alimento suministrado a las tilapias durante cada una de las etapas correspondió al 10% de su peso vivo, realizando ajuste de dieta cada mes. El tiempo total del ensayo fue de cinco meses y de cada tratamiento se sacrificaron al azar seis animales por tratamiento en cuatro muestreos durante todo el tiempo del experimento. El alimento suministrado fue una formulación comercial, ver Tabla 13, capítulo 3.

Calidad del agua

El sistema de recirculación, donde estuvieron las unidades experimentales permitió mantener las condiciones de calidad de agua dentro de los rangos de confort para la especie durante el tiempo experimental, los parámetros fisicoquímicos registrados semanalmente fueron: oxígeno disuelto (OD mg/L), temperatura (T°C) conductividad, pH, amonio (mg/L), los cuales fueron tomados con la Sonda EcoSense YSI; dureza (mg/L CaCO₃) y alcalinidad (mg/L CaCO₃),

con el kit FF1A Hach. Los tratamientos fueron: alimento balanceado más probióticos (tanques B3 y B6) y sin probióticos (tanques B4 y B5). Las condiciones óptimas para generar bienestar y confort a los organismos como tilapia se explicitan en la Tabla 1.

Tabla 1. Requerimiento de la calidad del agua para la tilapia roja (*Oreochromis* sp)

Parámetro	Mínimo	Óptimo	Máximo	Referencia
Sólidos suspendidos (ppm)	0	-	<25	(Hanley, 2005)
pH	4.5	6.0 -8.5	10.5	(Nicovita, s.f; Kubitza, 2000; Southern Regional Aquaculture Center, 1999)
Temperatura (°C)	18	28-32	42	(A.S.P.T S.A, 2009; Kubitza, 2000)
Amonio (ppm)	0	0	2.0	(Nicovita, s.f; Kubitza, 2000)
Nitritos (ppm)	0	0	5	(Nicovita, s.f; Southern Regional Aquaculture Center, 2009)
Nitratos (ppm)	0	0	300-400	(Southern Regional Aquaculture Center, 2009)
Oxígeno disuelto (mg/l)	1.6	>3.5	-	(Kubitza, 2000)
Fosfatos (ppm)	0.6	-	1.4	(Nicovita, s.f, A.S.P.T S.A, 2009)
Dureza	10	50-350	400	(Nicovita, s.f; Hanley, 2005)
Salinidad (ppt)	0	15	35	(Hsien-Tsan y Quintanilla,2008)

Fuente: (Pablo, Echeverri, Arturo, Rúaes, & Sc, 2014)

ppm: Partes por millón = miligramo/litro, ppt: partes por mil o gramos/litro

Análisis microbiológico

En la Tabla 2 y en la Tabla 3, se establecen el reglamento técnico sobre los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos que deben cumplir los productos de la pesca, en particular los pescados, los moluscos y los crustáceos para el consumo humano, dando cumplimiento a la Resolución 122 de 2012 del Ministerio de

Protección Social. Correspondiente a esto, se realizaron cuatro muestreos para evaluar las condiciones microbiológicas durante los cinco meses de cada uno de los tratamientos hasta completar todos los estadios de crecimiento, desde alevinos hasta preceba y engorde.

Las pruebas microbiológicas realizadas fueron recuento de Mesófilos totales (NTC 4519), recuento de Colimetría (NTC 4458), *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva (NTC 4779), Hongos y levaduras y presencia o ausencia de *Vibrio*,

En cada uno de los muestreos se tomaron porciones directamente de la piel y del tejido, para detectar la presencia de: *Staphylococcus aureus*, mesófilos, hongos y levaduras, coliformes totales, coliformes fecales y *Vibrio* sp (Resolución 122 de 2012). Para el desarrollo metodológico, se pesaron 10g de las muestras previamente mencionadas y se llevaron hasta una dilución de 10^{-3} , inoculándose por siembra en superficie 0,1mL en el agar Manitol Sal para *Staphylococcus aureus*, probando posteriormente las colonias presuntivas para *S.aureus* (colonias amarillas indicadoras de fermentación del manitol en el medio) con el test de coagulasa positiva; para el recuento de mesófilos Agar Nutritivo de (Merck), para levaduras Agar Sabourand de (Merck), para los recuentos de coliformes totales y fecales agar Chromocult (Merck) y para Aeromonas y Vibrio Agar Aeromonas – Vibrio de (Merck). Cada uno de los cultivos bacterianos se incubaron en condición aerobia a 37°C/24 horas, pasado este tiempo se realizó conteo por UFC en cada uno de los medios de cultivo. En todos los muestreos se realizaron las mismas evaluaciones. Se especificaron 4 variables de respuesta que fueron: *Staphylococcus aureus*, Colimetría, levaduras y mesófilos y 3 factores experimentales: el tratamiento, el tiempo, las estructuras (piel y tejido). El Vibrio se descartó porque fue 0 en todos los muestreos.

El diseño experimental fue por bloques, aleatorizado con factorial multiniveles. Los datos se analizaron en Statgraphics Centurion XV.

Criterios microbiológicos

En las Tabla 2 y Tabla 3, se presentan los criterios microbiológicos exigidos para los productos de la pesca que establece la Resolución 122 de 2012 del Ministerio de La Protección Social.

Tabla 2. Productos de la pesca, en particular pescados, moluscos y crustáceos frescos ultracongelados y congelados crudos

PARÁMETROS	N	m	M	C
Recuento <i>E. coli</i> UFC/g	5	10	400	2
Recuento Estafilococo coagulasa positiva UFC/g	5	100	1000	2
Salmonella /25g	5	NEGATIVO	0	0
<i>Vibrio cholerae</i> O1/25g	5	NEGATIVO	0	0

Fuente: Resolución 122 de 2012. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL

Tabla 3. Productos de la pesca, en particular pescados, moluscos y crustáceos pasteurizados o cocidos

PARÁMETROS	N	m	M	C
Recuento <i>E. coli</i> UFC/g	5	MENOR 10		
Recuento Estafilococo coagulasa positiva ufc/g	5	100	1000	2
Salmonella /25g	5	NEGATIVO	0	

Fuente: Resolución 122 de 2012. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL

n: Número de muestras por examinar.

m: Índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.

M: Índice máximo permisible para identificar el nivel aceptable de buena calidad.

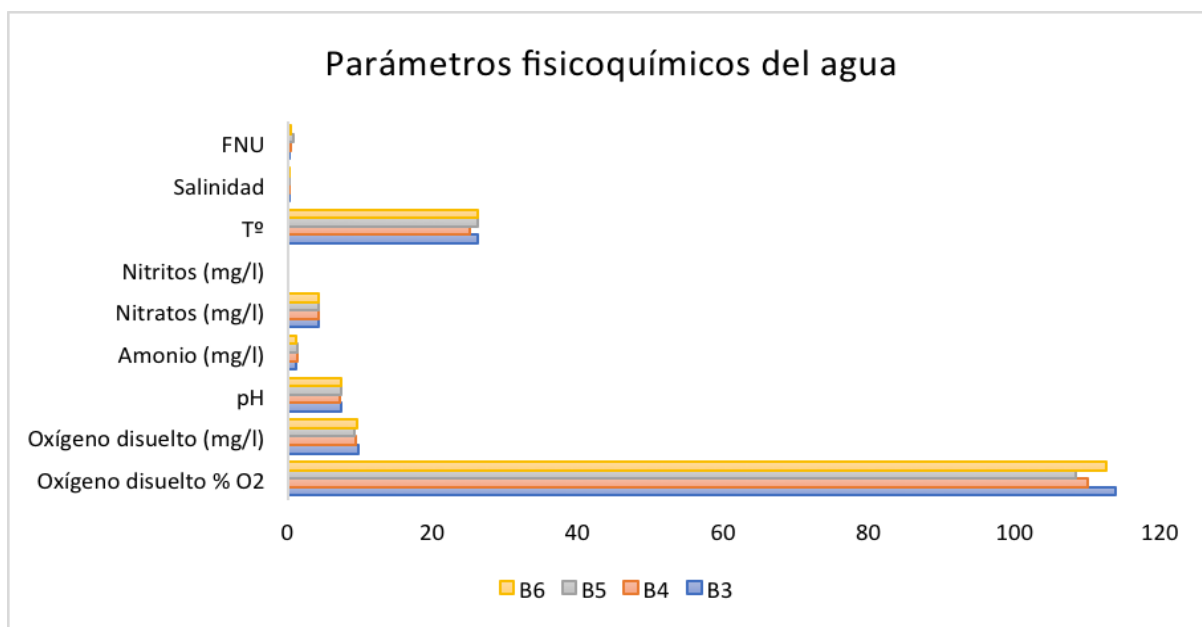
c: Número máximo de muestras permisibles con resultaos entre m y M.

Resultados

Calidad del agua

Los análisis fisicoquímicos realizados en el agua de cada uno de los tratamientos, fueron estables, condición que favoreció el bienestar y el confort de los animales durante todo el tiempo de tratamiento, estos resultados se muestran en el Gráfico 1. Los resultados obtenidos se compararon con los citados por (Pablo *et al.*, 2014) en la Tabla 1, mostrando que los parámetros se mantuvieron en los rangos óptimos para el cultivo de la tilapia, durante todos los periodos muestreados.

Gráfico 1. Parámetros fisicoquímicos tomados en los tanques de tratamiento durante la investigación



Condiciones sanitarias y del manejo, la calidad y la inocuidad del cultivo

Los resultados encontrados en los análisis estadísticos mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas en los recuentos de, *S.aureus*, mesófilos y levaduras a lo largo del tiempo y en ambos tratamientos tabla 5, tabla 6 y tabla 7; sin embargo los resultados de Colimetría mostraron que hubo diferencias estadísticamente significativas $P < 0,05$, en los recuentos a lo largo del tiempo. Los resultados se muestran en la tabla 4 y en el grafico 2.

Tabla 4. Análisis de Varianza para Colimetría

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	32804,9	5	6560,98	3,83	0,0098
Residuo	44493,1	26	1711,27		
Total (Corr.)	77298,0	31			

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Estructura	81,2813	1	81,2813	0,05	0,8292
Tiempo	31893,3	3	10631,1	6,21	0,0025
Tratamiento	830,281	1	830,281	0,49	0,4923
Residuo	44493,1	26	1711,27		
Total (corregido)	77298,0	31			

Tabla 5. Análisis de Varianza para Mesófilos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	154271,	5	30854,1	2,31	0,0726
Residuo	346664,	26	13333,2		
Total (Corr.)	500934,	31			

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
---------------	--------------------------	-----------	-----------------------	----------------	----------------

Estructura (piel y canal)	10117,5	1	10117,5	0,76	0,3917
Tiempo	119456,	3	39818,5	2,99	0,0494
Tratamiento	24697,5	1	24697,5	1,85	0,1852
Residuo	346664,	26	13333,2		
Total (corregido)	500934,	31			

Tabla 6. Análisis de Varianza para *Staphylococcus aureus*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	7644,66	5	1528,93	1,91	0,1272
Residuo	20824,3	26	800,935		
Total (Corr.)	28469,0	31			

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Estructura (Piel y canal)	1339,03	1	1339,03	1,67	0,2074
Tiempo	6204,09	3	2068,03	2,58	0,0750
Tratamiento	101,531	1	101,531	0,13	0,7247
Residuo	20824,3	26	800,935		
Total (corregido)	28469,0	31			

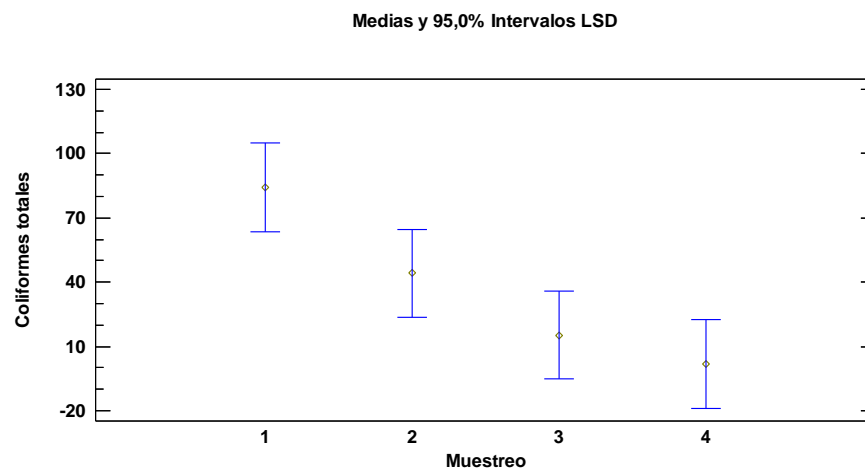
Tabla 7. Análisis de Varianza para Levaduras

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	490,125	5	98,025	2,36	0,0679
Residuo	1078,75	26	41,4904		
Total (Corr.)	1568,88	31			

Estructura	40,5	1	40,5	0,98	0,3323
Tiempo	425,125	3	141,708	3,42	0,0321

Tratamiento	24,5	1	24,5	0,59	0,4492
Residuo	1078,75	26	41,4904		
Total (corregido)	1568,88	31			

Gráfico 2: Recuento de colimetría en el tiempo



Discusión

Los resultados encontrados en esta etapa de la investigación mostraron que la población de Colimetría, correspondientes a bacterias Gram negativas disminuyó en el tiempo, en ambos tratamientos, siendo estadísticamente diferentes con respecto al conteo de los demás grupos microbianos. Los géneros de *Vibrio* sp y *Aeromonas* sp, no fueron encontrados durante todo el tiempo de la investigación; así mismo no se encontraron infecciones en ninguno de los animales de ambos tratamientos.

Las condiciones microbiológicas dentro del sistema determinan la calidad higiénico sanitaria del pescado; es de anotar que las condiciones del sistema de Re circularización se mantuvieron estables, durante todo el tiempo de la

investigación. El uso de sistema RAS se ha incrementado notablemente en la última década, en virtud de la capacidad de filtración y reciclado del agua, controlando la crianza de los peces en tanques y bajo un entrono controlado (FAO, 2002)(Ifapa, 2008). Es probable que el sistema haya tenido un efecto importante en el reciclado de material orgánico y microbiológico, sin embargo la disminución de los recuentos no es solo función del sistema, es probable que también los microorganismos benéficos que quedaban liberados dentro del agua hayan ejercido un efecto antagónico contra bacterias Gram negativas, resultados similares fueron encontrados por (López-Acevedo *et al.*, 2013). Investigaciones realizadas por Balcazar *et al* (2006) describieron la acción directa de los probióticos contra representantes del género *Vibrio* y otras bacterias potencialmente patógenas que viven en el agua. Gutiérrez *et al* (2016) también citaron el efecto antagónico de algunas especies de *Bacillus* sp contra *Aeromonas* sp y *Streptococcus agalactiae*, encontrando un efecto bactericida de los probióticos, sobre diferentes especies patógenas, así mismo investigadores como (Nakayama, Lu, & Nomura, 2009)(Newaj-Fyzul, Al-Harbi, & Austin, 2014) encontraron que los probióticos al ser adicionados directamente sobre el sistema

disminuyeron el índice de procesos infecciosos y los recuentos de cepas patógenas asociadas a enfermedades y a calidad de agua. Es probable que la acción de filtración que tiene el sistema más los microorganismos probióticos que recirculó en todos los tanques con ambos tratamientos hayan ejercido un efecto control sobre la dinámica microbiana durante el tiempo de la investigación.

Conclusiones

Las condiciones del sistema RAS en el cultivo de Tilapia mantuvieron los rangos fisicoquímicos y microbiológicos estables, dando cuenta de un sistema confortable para los animales, durante todo el tiempo de la investigación.

La calidad microbiológica tanto del agua como de los peces a lo largo de la investigación, permitieron determinar una buena calidad higiénico sanitaria del cultivo de peces.

CAPITULO 2

Calidad nutricional y sensorial de la tilapia (*Oreochromis sp*) suplementada con probióticos

Introducción

En la producción animal, la alimentación es uno de los factores más importantes, representando del 60 al 70% de los costos totales. En este caso, la producción piscícola no está exenta, ya que los costos son mucho más elevados respecto a otras producciones pecuarias (Dueñas Cornejo, 2017). El alto costo se debe en gran parte, a que las especies piscícolas requieren para su correcta nutrición, alimentos con elevados niveles de proteína, por lo que buscar alternativas que permitan maximizar el aprovechamiento de la proteína del alimento en términos nutritivos, es una buena opción para mejorar la alimentación (Dueñas Cornejo, 2017).

Los probióticos como suplementos alimenticios han demostrado tener un impacto significativo en la salud del pez, además de mejorar los resultados económico en su producción (Cota Gastélum, 2011). Por lo tanto, el uso de los probióticos en la producción piscícola busca lograr una mejor absorción de los nutrientes, disminuir la mortalidad y mejorar la resistencia a las enfermedades, entre otros.

Para determinar los variados efectos que tienen estos microorganismos en la canal del animal, es fundamental realizar un análisis químico proximal, que determine, en un alimento, el contenido de humedad, de grasa, de proteína y de cenizas, también, están orientados a determinar el valor nutritivo y la forma de combinarse con otras materias primas para alcanzar el nivel deseado de los distintos componentes en la dieta. Su empleo se enfoca en el control de la calidad y la evaluación de los estándares establecidos por los organismos de control, los

productores y los consumidores (Izaurieta, 1994)(Izaurieta, 1994).

En Colombia son pocos los estudios científicos realizados que midan la influencia de los probióticos en la absorción de los nutrientes en especies piscícolas, evaluando parámetros del crecimiento y del aprovechamiento nutritivo (Monroy, Castro, Castro, Castro, & Ramón, 2012), sin embargo, se ha venido incursionando en el tema con gran interés gracias a los beneficios que se obtienen a nivel productivo; no obstante es importante conocer los efectos que puedan generar estos microorganismos sobre el animal, que van desde el mejoramiento de los parámetros zootécnicos, hasta el aumento del contenido nutricional, de los ácidos grasos, del sabor y de la textura.

Por lo anterior, se ha recurrido a la evaluación sensorial, la cual es una disciplina científica empleada para medir, analizar e interpretar reacciones y características del alimento, percibidas a través de los sentidos de la vista, el olfato, el gusto, el tacto y la audición (Huss, 1998).

Científicamente, el proceso sensorial puede ser dividido en tres pasos: Detección de un estímulo por el órgano del sentido humano; evaluación e interpretación mediante un proceso mental; y posteriormente, la respuesta del asesor ante el estímulo. Diferencias entre los individuos, en respuesta al mismo nivel de estímulo, pueden ocasionar variaciones y contribuir a una respuesta no definitiva de la prueba (Huss, 1998). Aunque la mayoría de las características sensoriales sólo pueden ser medidas significativamente por los humanos, se han efectuado avances en el desarrollo de instrumentos que puedan medir cambios individuales de la calidad de los productos a estudiar (Huss, 1998)

Métodos sensoriales

Las pruebas analíticas objetivas, usadas en el control de la calidad, pueden ser divididas en dos grupos: pruebas discriminativas y pruebas descriptivas. Las pruebas discriminativas son usadas para evaluar si existe una diferencia entre las muestras (prueba triangular, prueba de calificación/ordenación) (Catania & Avagnina, 2007; Molina, 2016). Las pruebas descriptivas se emplean para

determinar la naturaleza e intensidad de las diferencias (perfiles y pruebas de la calidad). Existe otra prueba, denominada subjetiva, consistente en una prueba emocional basada en una medición de preferencias o aceptación (Huss, 1998).

Objetivo desarrollado

Determinar la calidad nutricional y la sensorial de la tilapia (*Oreochromis* sp) suplementada con probióticos y compararlo con el lote no suplementado

Metodología

Análisis de la calidad nutricional

Una vez finalizado el proceso productivo de cinco meses, se sacrificaron ocho peces para la evaluación de calidad nutricional; se procesaron cuatro sin probióticos obteniéndose un pool de filetes de 358g y cuatro con probióticos obteniendo un pool de filetes de 348 g. Los filetes se obtuvieron en fresco en el laboratorio de cárnicos de la Corporación Universitaria Lasallista, bajo condiciones de asepsia. Para la obtención del filete, se procedió a retirar la cabeza y posteriormente se realizó una incisión la zona ventral para retirar las vísceras, se retiraron las escamas y la piel, dejando expuesto solo el tejido para realizar un corte horizontal a ras de la columna vertebral para extraer los filetes.

El laboratorio TECNIMICRO exigía pesos superiores a 300 g para los análisis fisicoquímicos. Estos análisis correspondieron a calorías, (cálculo que se hizo a partir de la grasa, la proteína y los carbohidratos), carbohidratos (cálculo por diferencia de componentes diferentes a los carbohidratos), las cenizas mediante el método (A.O.A.C 923.03) Ácido docosaheptaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA), grasas monoinsaturadas, poliinsaturadas y saturadas, grasas Cis y Trans bajo el método (AOCS Ce 1c 89 Edition 2012*), humedad por el método (A.O.A.C 934.01), los aceites Omegas 3, 6 y 9 con el método (AOCS Ce 1c 89 Edition 2012*) y proteína con el método (A.O.A.C 988.05)

Análisis sensorial

Se realizó una prueba triangular con jueces no entrenados de acuerdo al protocolo establecido en el INTA por (Catania & Avagnina, 2007). Este se llevó a cabo con un panel de 60 jurados y 60 muestras en una prueba de percepción discriminativa para ayudar a detectar pequeñas diferencias entre las tilapias alimentadas con y sin probióticos; las cuales fueron preparadas para la evaluación sensorial con aceite de oliva y sin sal para permitir un sabor homogéneo. Se evaluó olor, sabor, color, textura, aceptabilidad general, según la norma del Codex Alimentarius para la evaluación sensorial del pescado. (CAC/GL – 31 1999). Dicho análisis se llevó a cabo mediante la implementación de un formulario corto, en el que se pedía al consumidor indicar cual de las muestras era diferente mediante la marcación de una X. Las muestras se codificaron con tres números (679), (371) y (124), donde (371) y (124) representaban la muestra sin probióticos, y (679) con los probióticos; dichos códigos se colocaron de manera aleatoria en los formularios. La prueba se analizó con el paquete estadístico XLSTAT 2017.7.48622. Prueba de discriminación sensorial. Tipo de prueba: triangular; Método: modelo de Thurston Estadística: Clopper-Pearson; Binomial

La hipótesis con la cual se partió para el estudio fue:

Ho: Entre las muestras (679), (371) y (124), no existe diferencia, son iguales

Ha: Entre las muestras (679), (371) y (124), existe diferencia al menos de una de ellas por lo menos una diferente

Resultados

En la Tabla 8 se relacionan los resultados que arrojó el análisis de la calidad nutricional para las tilapias suplementadas con y sin probióticos

Tabla 8. Análisis fisicoquímico para filete de tilapia suplementado con y sin probióticos

Análisis fisicoquímico	Unidad	Resultado Con probióticos	Resultado sin probióticos	Método
Calorías	Kcal/100g	106,99	103	Cálculo a partir de grasa, proteína y carbohidratos
Calorías de grasa	Calorías/100g	36,99	18,36	Cálculo a partir de la grasa
Carbohidratos	%	0	0	Cálculo por diferencia de componentes diferentes a carbohidratos
Cenizas (Incineración directa)	%	1,92	2,63	A.O.A.C 923.03 Ed. 19* de 2012
DHA	mg/100g	44,18	28,14	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
EPA	%	2,4	1,65	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Grasa insaturada	%	2,14	1,06	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Grasa monoinsaturada	%	1,68	0,85	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Grasa poliinsaturada	%	0,46	0,21	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Grasa saturada	%	1,59	0,73	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Grasa total	%	4,11	2,04	A.O.A.C 920.39 Ed. 19 de 2012*
Grasas Cis	%	0,12	0,07	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Grasas Trans	%	0,004	0,001	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Humedad	%	76,47	74,17	A.O.A.C 934.01 Ed. 19 de 2012- Modificado*
Omega 3	mg/100g	73,55	44,07	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Omega 6	mg/100g	384,74	199,5	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Omega 9	mg/100g	1.389,56	689,27	AOCS Official methods Ce 1c 89 Edition 2012*
Proteína	%	21,16	17,5	A.O.A.C 988.05 Ed. 19 de 2012*

Análisis realizado por TECNIMICRO (*) Métodos acreditados por ONAC.

Certificado de acreditación 10-LAB-053

Los resultados obtenidos para la muestra del filete de la tilapia suplementado con probióticos, indica valores superiores en todos los ítems evaluados, siendo los más relevantes los ácidos grasos de cadena larga como DHA (ácido Docosahexaenoico) con un valor de 44,18 mg/100g de muestra, y el EPA (ácido eicosapentaenoico) con un valor de 2,40 mg/100g por muestra, mientras que los valores obtenidos para las muestras sin probióticos fueron 28,14 mg/100g y 1,65 mg/100g respectivamente.

Por otro lado, se muestran los valores totales de Omega 3, 6 y 9 los cuales evidencian de igual forma un aumento significativo en las muestras suplementadas con probióticos, estos valores fueron Omega 3 (73,55 mg/100g), Omega 6 (384,74 mg/100g) y Omega 9 (1,389,56 mg/100g), a diferencia de las no suplementadas que arrojaron valores muy inferiores de Omega 3 (44,07 mg/100g) Omega 6 (199,50 mg/100g) y Omega 9 (689,27 mg/100g), presentándose una diferencia significativamente positiva en cuanto a estos valores para la muestra suplementada.

El examen sensorial estuvo basado en la determinación de la apariencia, del aroma, de la textura y del sabor del pescado cocinado al ser sometido a la evaluación sensorial. En la

Tabla 9 se relacionan los resultados que arrojó el análisis sensorial, para las tilapias suplementadas con probióticos y para las no suplementadas.

Tabla 9. Evaluación sensorial del pescado cocinado

Jurado	Producto 1	Producto 2	Producto 3	Correcto/incorrecto
J1	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+
J2	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	+
J3	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	+
J4	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+
J5	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	+
J6	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+

Jurado	Producto 1	Producto 2	Producto 3	Correcto/incorrecto
J7	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+
J8	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	+
J9	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+
J10	Con pro 679	Sin Pro 124	Sin Pro 371	+
J11	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	+
J12	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	+
J13	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+
J14	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+
J15	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	+
J16	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+
J17	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	+
J18	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	+
J19	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	+
J20	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	+
J21	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	+
J22	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	+
J23	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	+
J24	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	+
J25	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	+
J26	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	-
J27	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	+
J28	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	-
J29	Con pro 679	Sin Pro 124	Sin Pro 371	-
J30	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	+
J31	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	-
J32	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	-
J33	Con pro 679	Sin Pro 124	Sin Pro 371	-
J34	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	-
J35	Con pro 679	Sin Pro 124	Sin Pro 371	-
J36	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	-
J37	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	-
J38	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	-
J39	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	+
J40	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	-
J41	Con pro 679	Sin Pro 124	Sin Pro 371	-
J42	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	-
J43	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	-
J44	Con pro 679	Sin Pro 124	Sin Pro 371	-
J45	Sin Pro 124	Sin Pro 371	Con pro 679	-
J46	Con pro 679	Sin Pro 124	Sin Pro 371	-
J47	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	-
J48	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	-

Jurado	Producto 1	Producto 2	Producto 3	Correcto/incorrecto
J49	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	-
J50	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	-
J51	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	-
J52	Sin Pro 124	Con pro 679	Sin Pro 371	-
J53	Con pro 679	Sin Pro 124	Sin Pro 371	-
J54	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	-
J55	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	-
J56	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	-
J57	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	-
J58	Con pro 679	Sin Pro 371	Sin Pro 124	+
J59	Sin Pro 371	Con pro 679	Sin Pro 124	-
J60	Sin Pro 371	Sin Pro 124	Con pro 679	+

* correcto/incorrecto hace referencia al acierto o desacierto de jurado con respecto a la identificación del pescado con probióticos.

En las Tabla 10

Tabla 11 Tabla 12, se presentan los resultados estadísticos obtenidos para los análisis sensoriales, realizados con el paquete estadístico XLSTAT 2017.7.48622.

Tabla 10. Resumen de las opciones seleccionadas

Tes	Triangle test
Number of assessors	60
Prop. of correct answers	0,492
Guessing probability	0,333

Tabla 11. Pruebas de discriminación sensorial

Prop. of discrim.	0,237
Statistic	28
p-value	0,009
Alpha	0,05
Power	0,742

Tabla 12. Parámetro estimado (modelo de Thurstonian / Clopper-Pearson)

Parameters	Value	Std. deviation	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
Prop. of correct	0,492	0,065	0,359	0,625

answers				
Prop. of discrim.	0,237	0,098	0,038	0,438
d-prime	1,422	0,345	0,534	2,103

Los resultados de esta investigación mostraron que hubo diferencias estadísticamente significativas con $P < 0,05$, en cuanto a la percepción organoléptica de las tilapias suplementadas con probióticos (ver

Tabla 11), en este caso con resultados positivos, ya que los comentarios de lo jueces hicieron alusión al mejoramiento del sabor y de la textura en la carne dando como resultado el 49,2% de las respuestas correctas o acertadas sobre el producto diferente, con una desviación estándar de 0,065. De igual manera, el valor d-prime fue mayor a 0, lo que indica que hubo diferencia en los valores obtenidos, ya que este valor es el que acepta o rechaza la hipótesis nula, en este caso rechazándola con un valor de 1,422 evidenciando la diferenciación en el sabor por parte de los jurados. (ver la

Tabla

11)

Discusión

Los resultados de la calidad nutricional muestran que la suplementación con los probióticos en la dieta de la tilapia mejoró los valores nutricionales inherentes al pescado. Karapanagiotidis, I.T., Yakupitiyage, A., Little, D.C., Bell, M.V. and Mente, E. (2010), en (Restrepo V, Diaz, y Pardo, 2012), afirman que en la tilapia nilótica no se tiene una buena relación de ácidos grasos omega 6 y omega 3, con respecto a otros peces de agua dulce. Los autores Nguyen, N H., Ponzoni, R.W., Yee, H.Y., Abu-Bakar K.R., Hamzah A. and Khaw H.L (2010), sugieren que se debe resaltar la posibilidad de mejorar los valores nutricionales a través de la alimentación y de la genética. Por consiguiente, cabe anotar que los resultados obtenidos del perfil nutricional realizado a las tilapias suplementadas con probióticos, son un buen indicador de que la calidad nutricional puede ser mejorada, dado que todos los valores nutricionales evaluados fueron superiores en los lotes de tilapia suplementadas con probióticos.

En cuanto a los resultados obtenidos de Omega 9, estos fueron mas altos para las tilapias suplementadas con probióticos (1,389,56 mg/100g), comparado con el valor arrojado por las no suplementadas (689,27 mg/100g), este comportamiento se observa tambien para los valores de Omegas 3 y 6. En los estudios realizados por (Rica *et al.*, 2013) los valores encontrados de Omega 9 en la bibliografía fueron mas bajos que los reportados en esta investigación: desde 36.80 hasta 278.50mg/100g en las especies tropicales; y desde 24.00 hasta 186.40mg/100g en las especies subtropicales, sin embargo, sigue siendo este Omega el mas alto comparado con el 3 y el 6 en dicho estudio

En las pruebas de análisis sensorial realizadas a las tilapias suplementadas y no suplementadas con los probióticos, los resultados evidencian mejoras con respecto al sabor, al olor y a la textura de las tilapias suplementadas, lo cual se puede correlacionar con los valores de los ácidos grasos obtenidos, ya que según

Valenzuela y Sanhueza (2009), las altas concentraciones de EPA y de DHA pueden evitar el "olor a pescado" en los productos de consumo piscícola, proponiendo o asumiendo que mejoran el sabor de la carne. Cabe resaltar que no hay precedentes que indiquen análisis sensoriales realizados a las tilapias alimentadas con probióticos, por lo que se hace necesario llevar a cabo estudios de este tipo que permitan profundizar en el tema.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos se concluye que las variables medidas correspondiente a calidad nutricional de los peces alimentados con probióticos mejoraron sustancialmente con respecto a la población control, no suplementada.

El análisis sensorial realizado por medio de la prueba triangular permitió determinar que hubo diferencias entre las muestras de pescado alimentados con y sin probióticos.

CAPÍTULO 3

Variables zootécnicas y de bienestar animal en el cultivo de tilapia (*Oreochromis* sp) suplementada con probióticos

Introducción

El intestino es el principal órgano para la digestión y la absorción de los nutrientes; y en los peces ejerce su influencia en el balance hídrico, en el electrolítico, en la regulación endocrina, en el metabolismo y en la inmunidad, convirtiéndose en el sitio donde deben llegar los probióticos que van incluidos en las dietas (Gutiérrez Ramirez, David Ruales, Montoya Campuzano, & Betancur Gonzalez, 2016). Los efectos benéficos de estos microorganismos dependen en gran medida de la habilidad para llegar viables al sitio de acción y en la cantidad suficiente para que puedan ejercer su actividad funcional (Gutiérrez Ramirez *et al.*, 2016).

Una vez los probióticos se establecen en el intestino desarrollan funciones metabólicas importantes como la producción de ácidos como el láctico y acético, diacétilo, de enzimas y de péptidos antimicrobianos entre otros; las cuales se ven reflejadas en el aumento de las variables zootécnicas del animal (Monroy *et al.*, 2012). Por otro lado, investigaciones realizadas por Avella *et al* (2012) sugieren que el uso de los probióticos incrementa el crecimiento del hospedero a través de una modulación positiva de los factores de crecimiento, uno de ellos es la Insulina, que se asocia a una baja expresión genética de la miostatina y a bajos niveles de cortisol (Avella *et al.*, 2012), lo cual se ve reflejado directamente en la tolerancia al estrés. (Waché, Auffray, Gatesoupe, & Zambonino, 2006).

En la actualidad, el concepto de alimento va ligado a su capacidad de mejorar el bienestar, no sólo del organismo, sino del medio que lo rodea (alimento funcional); en este caso, en la acuicultura el uso de los probióticos como microorganismos vivos, dentro de la matriz alimentaria, se considera una alternativa importante porque mejora tanto la condición del animal como la calidad del agua. Cuando se administran en cantidades adecuadas podrían incrementar la viabilidad de los cultivos de los peces, reflejado en las tasas de crecimiento y mejorando la resistencia a las enfermedades y su desempeño en las tasas de crecimiento (Gutiérrez Ramirez., 2016).

Objetivos desarrollados

- Comparar algunas variables zootécnicas como la ganancia en peso, la ganancia en talla, la conversión alimentaria, y la tasa de crecimiento específico de la tilapia roja *Oreochromis sp*
- Evaluar el bienestar animal entre los lotes suplementados con probióticos y los no suplementados de la tilapia roja *Oreochromis sp*

Metodología

Para el desarrollo de los objetivos, la metodología se dividió en dos etapas, la primera etapa consistió en suministrar el microorganismo probiótico microencapsulado dentro del pellet del alimento balanceado durante un periodo de 40 días correspondiente a la etapa de alevinos hasta juveniles. Se realizaron muestreos al inicio del experimento, al día 20 y al día 40 del ensayo para obtener los análisis de la producción.

La segunda etapa consistió en suministrar el microorganismo probiótico microencapsulado, no incluido en el pellet, sino impregnado en el concentrado, se tuvo en cuenta, desde los juveniles hasta terminar la fase de producción en la ceiba. Para los análisis de producción se realizaron muestreos cada mes durante cuatro meses, un total de cuatro muestreos.

Material biológico

Al iniciar el experimento se distribuyeron en cuatros tanques de a 185 alevinos de tilapia roja (*Oreochromis* sp) para un total de 740 animales con peso inicial promedio de 0,45 gr/pez con un volumen efectivo de 700 L. Se establecieron dos tratamientos con dos repeticiones, el primer tratamiento correspondió al control sin adición de probióticos en el alimento (tanques B4 y B5), y el segundo tratamiento con adición de los probióticos *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, *Bacillus megaterium* y *Bacillus polymyxa* (tanques B3 y B6), los cuales fueron aislados en un estudio anterior (Naranjo *et al.*, 2015). El día 10 del experimento por fallas en el sistema RAS se originó la muerte de 70 animales, más los que a la fecha se habían muerto naturalmente, quedando un total de 631 alevinos, distribuidos en los 4 tanques. El experimento continuó hasta el día 40 en condiciones desbalanceadas.

Cepas probióticas utilizadas microencapsuladas

Se microencapsularon Los microorganismos *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa* y *Lactobacillus delbrueckii* sub *bulgaricus* por secado por aspersion, los cuales provenían del intestino de tilapias, se purificaron y caracterizaron previamente por las pruebas microbiológicas, las bioquímicas y las moleculares (De Araújo-Urbe, Ruiz-Villadiego, Montoya-Campuzano, & Gutiérrez-Ramírez, 2016), (Gutierrez Ramirez, David Ruales, & Naranjo, 2016). Las microcápsulas con los probióticos se incluyeron en la dieta dentro del pellet de tamaño promedio de 2mm para garantizar una formulación para los alevinos de la tilapia, donde, se da un alto índice de susceptibilidad y de vulnerabilidad a infecciones. En las demás etapas se le suministró aspersionado en el alimento balanceado.

Las dietas y la alimentación

Se diseñaron y formularon dos dietas isoproteicas e isocalóricas (42% p/v de proteína bruta PB, del 86% de digestibilidad, de acuerdo a protocolos establecidos por (Gutiérrez, 2011; Vásquez-Torres, Yossa, Hernández, & Gutiérrez, 2010) y de 4765.8 Kcal/Kg de energía respectivamente, según las recomendaciones de la NRC, (Committee on the Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, 2011); se formuló una dieta con 1% de los microorganismos microencapsulados, correspondientes a 40g, solo para la etapa de alevino (Tabla 13). Los concentrados fueron clasificados como: con probióticos y sin probióticos.

Tabla 13. Formulación de la dieta para tilapia con 45% p/v de proteína y del 86% de digestibilidad

Ingrediente	Cantidad (%)	
	D1	D2
Torta de soya	23	23
Torta de palmiste	12	12
Harina de pescado	45	45
Salvado de trigo	11	11
Maíz amarillo	5	5
Alfacelulosa	1	-
¹ Probióticos microencapsulados	-	1
Aceite de pez	1	1
Premezcla Rovimix Tilapia ²	2	2

¹Probioticos microencapsulados 40g [3×10^6 *Bacillus* sp] [2×10^6 *Lb.delbueckii*]/g

Concentración final para 4Kg [$1,2 \times 10^5$ microorganismos/g]

² Premezcla Rovimix Tilapias @ Lab. DSM Nutritional Products Colombia 3.0 (Vit A 7.5×10^5 KUI, Vit D3 3.7×10^5 KUI, Vit E 10.8×10^3 mg, Vit K3 1.66×10^3 mg Vit B1 1.83×10^3 mg, Vit B2 2.9×10^3 , Vit B6 1.8×10^3 mg, Vit B12 3.3 mg, Ac. Ascórbico 4.1×10^4 mg, Niacina 7.5×10^3 mg, Acido pantotenico 8.3×10^3 mg, AcidoFólico 1.6×10^5 mg, Biotina 2.5×10^3 mg, Cobre 2.8×10^4 mg, Hierro 2.5×10^3 mg, Manganeso 0.167 mg, Yodo 2.1×10^4 mg, Zinc 6.6×10^4 , Selenio 9.1×10^4 mg, Magnesio 9.1×10^4 mg, Inositol F.G 5.8×10^4 mg, Luctanox E 25 g, vehículo c.b.p 1.0 kg.3. % de proteína de la dieta 42% formulado, proteína digestible 36,2 % - Energía Kcal/Kg Calculada 4765,8; energía digestible 3586,9 Kcal/Kg – Lípidos 6,7%.

La cantidad de la ración se suministró cuatro veces al día y se calculó sobre la base de la biomasa a una tasa de alimentación del 10%, mantenida durante el periodo experimental y se ajustó a los 20 días de iniciado el experimento. Para ello, de cada tanque se tomaron 50 alevinos aleatoriamente, a los que se les registraron el peso y la talla; estos registros se hicieron al inicio del experimento, al día 20, al día 40, durante cada mes hasta llegar al estadio de ceba, con un ictiómetro y una balanza digital con una sensibilidad de 0,1g.

La segunda fase del experimento se realizó a partir del día 40 y se terminó en la etapa de la ceba y del sacrificio, en este punto, los probióticos se aspersaron sobre el concentrado conservando siempre la concentración 1%, y la misma cantidad de los microorganismos. El concentrado utilizado para esta etapa, cumplió con las recomendaciones de la NRC, (Committee on the Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, 2011) y con las mismas características del concentrado utilizado en la primera etapa del experimento, variando solo el porcentaje de proteína a 35% p/v para los juveniles y 28% p/v para la ceba. Por otro lado, se realizó la homogeneización de las muestras para cumplir con la capacidad de la carga de los peces en los tanques, por lo cual se trabajó con un total de 57 peces por tanque para cada uno de los tratamientos.

Parámetros zootécnicos

Con los valores de peso y talla se calculó: ganancia de peso (GP) del periodo con la fórmula $GP=PF-PI$, donde PF es peso final; PI es peso inicial; ganancia de talla (GT), con la fórmula $GT=TF-TI$, donde TF es talla final y TI es talla inicial; se calculó además la tasa específica de crecimiento (TEC), con la fórmula $TCE(\%) = \frac{\ln(Pf)-\ln(Pi)}{t} \times 100$; donde: Pf y Pi son el peso final e inicial, t es el tiempo y Ln es el logaritmo natural de los pesos (W. E. Ricker, 1979)(William Edwin Ricker, 2010); el porcentaje de sobrevivencia (%S) al final del periodo con la fórmula $\%S = \frac{No \text{ final de peces}}{No \text{ inicial de peces}} \times 100$, y la Conversión Alimenticia (CA),

obtenida de la relación entre el alimento consumido y la biomasa al final del periodo experimental.

Análisis estadístico

El diseño experimental se realizó por bloques completamente aleatorizados. Las variables medidas fueron el peso y la talla, se especificaron dos variables respuestas y dos factores experimentales. Se realizó inicialmente análisis de varianza para determinar si había diferencias entre las réplicas de cada tratamiento y posteriormente un análisis de varianza entre tratamientos aplicando la prueba de Duncan para comparaciones múltiples. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Stagraphics Centurion XV con licencia amparada por la Corporación Universitaria Lasallista-Colombia.

Análisis de la bioquímica sanguínea

Para determinar el bienestar de los animales se realizó una prueba bioquímica de sangre a los 160 días de iniciado el ensayo, en estadio de ceba y al momento del sacrificio, para lo cual se sedaron los animales con hielo, bajando su temperatura corporal. De cada tratamiento, tanto del suplementado con probióticos como del no suplementado se formó dos pool de 10 animales (40 en total), a los cuales se les practicó una punción cardiaca para obtener la sangre que se llevó sin refrigerar en tubos BD Vacutainer[®] de 7ml tapa roja sin anticoagulante EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético), al Laboratorio de Estudios Clínicos Veterinarios Hno Marco Antonio Serna f.s.c, en la Corporación Universitaria Lasallista. Ver la Fotografía 1 y 2.

Fotografía 1. Punción cardiaca a la tilapia para la extracción de la sangre



Fotografía 2. Incorporación de la sangre obtenida de las tilapias en tubos para análisis bioquímicos



Comparación de los epitelios intestinales de las tilapias alimentadas con y sin probióticos

Para contrastar los resultados zootécnicos con los desarrollos intestinales en cada grupo experimental de los animales, se realizó un análisis histológico a 10 muestras de intestino de las tilapias suplementadas con probióticos y a 10 intestinos de las no suplementadas, obtenidos todos por sacrificio al terminar los cinco meses de producción. Los cortes se realizaron en el segundo tercio del intestino, con el fin de evaluar las diferencias que pudiesen tener los peces alimentados con probióticos en las crestas intestinales.

Se utilizó el siguiente protocolo para la realización de este ensayo:

Tinción con hematoxilina eosina para los cortes histológicos del intestino.

Los intestinos previamente obtenidos se fijaron en formalina al 10% v/v y se conservaron a -7°C por una semana, posteriormente, se lavaron con abundante agua hasta retirar el exceso del formaldehído, y se sumergieron en parafina, realizando 4 cortes en el micrótopo, para cada uno de las muestras. Posteriormente a esto se realizó el proceso de desparafinado de las muestras, llevándolas a estufa a 60°C durante 10 min y posteriormente a Xilol, realizando tres baños de 10 min cada uno. Vigilando la agitación del cestillo que las contenían, finalizado este paso, se escurría el cestillo que las contenían en papel absorbente con la intención de evitar contaminaciones.

Al terminar, las muestras se hidrataron con concentraciones decrecientes de alcoholes (de 100% al 50% v/v) durante tres minutos por cada concentración, se retiró el exceso de los reactivos con agua de grifo. Luego se sometió al colorante Hematoxilina, durante 5 min y posteriormente, a Eosina, de 30 segundos a 3 min. Se lavó en agua corriente. Se procedió a la deshidratación a las concentraciones crecientes de alcohol (del 50% al 100%v/v) quedando en contacto con esta solución 30 segundos, mientras que al 100% v/v se dejaron reposar en tres coplins diferentes durante 10 min cada uno, sometándose posteriormente a Xilol.

Para finalizar se montaron las muestras al microscopio, en objetivo de 100 X con aceite de inmersión revisando 5 campos por muestra y tabulando los valores tanto del largo de la cresta como el ancho, se promediaron los valores obtenidos en cada campo de los 5 campos, tanto para longitud como amplitud de la cresta y se tabularon.

Análisis estadístico

Se realizó un diseño por bloques, completamente aleatorizado con dos variables dependientes y un factor categórico. El análisis se realizó con el programa estadístico Statgraphics Centurion XV.

Resultados

Parámetros zootécnicos

A continuación, los resultados de los análisis zootécnicos se dividen en dos partes: la alimentación con los probióticos encapsulados incluidos en el pellet de la dieta de los estadios desde 0 a 40 días de desarrollo, y desde el día 40 hasta terminar la etapa productiva en la fase de engorde, con los microorganismos encapsulados aspersados en la dieta.

Alimentación con los probióticos encapsulados incluidos en el pellet de la dieta de los estadios desde 0 a 40 días

En vista de que en la primera etapa del tratamiento los datos fueron desbalanceados, se realizó la prueba para determinar varianzas iguales entre las replicas de cada uno de los tratamientos. El modelo ajustado fue

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, t; j = 1, 2, \dots, r_i \quad 1$$

$$H_0 = \sigma_{b3}^2 = \sigma_{b6}^2$$

$$H_a = \sigma_{b3}^2 \neq \sigma_{b6}^2$$

para algún $i, j = 1, 2, \dots, t$

Tabla 14: Análisis de Varianza para peso entre el tanque B3 y B6

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	1,33582	1	1,33582	0,61	0,4342
Residuo	596,645	274	2,17754		
Total (Corr.)	597,981	275			

Las varianzas para peso entre los peces de los tanques B3 y B6 son iguales, se acepta la hipótesis nula, no existen diferencias estadísticamente significativas entre las varianzas de ambas replicas.

Prueba F para confirma varianzas iguales

	<i>peso b3</i>	<i>peso b6</i>
Media	7,60639085	7,743882438
Varianza	2,35407415	1,960107911
Observaciones	148	128
Grados de libertad	147	127
F	1,20099212	
P(F<=f) una cola	0,14462755	
Valor crítico para F (una cola)	1,32908541	

$$H_0 = \sigma_{b4}^2 = \sigma_{b5}^2$$

$$H_a = \sigma_{b4}^2 \neq \sigma_{b5}^2 \text{ para algún } i, j = 1, 2, \dots, t$$

Para los tanques B4 y B5

Tabla 15: Análisis de Varianza para peso entre el tanque B4 y B5

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0,146916	1	0,146916	2,31	0,1297
Residuo	17,6199	277	0,0636098		
Total (Corr.)	17,7668	278			

Las varianzas para peso entre los peces de los tanques B4 y B5 son iguales, se acepta la hipótesis nula, no existen diferencias estadísticamente significativas entre las varianzas de ambas replicas.

Prueba F para comprobar varianzas iguales entre B4 y B5

	<i>Peso B4</i>	<i>Peso B5</i>
Media	3,36933321	3,414535589
Varianza	0,07690082	0,047310616
Observaciones	152	127
Grados de libertad	151	126
F	1,32544536	
P(F<=f) una cola	0,00253424	
Valor crítico para F (una cola)	1,32807682	

Una vez se establecieron varianzas iguales entre las réplicas de cada tratamiento se realizó, una ANOVA para determinar diferencias entre tratamientos. En la tabla 16 se muestran los resultados de los análisis de varianza para el peso, y la talla, donde se evidencia que hubo diferencias estadísticamente significativas $P < 0,05$ en ambos tratamientos.

En el Gráfico 3 se muestra que los peces correspondientes al tratamiento de los alimentados con los probióticos tenían pesos y tallas más altas que los que no fueron alimentados con ellos.

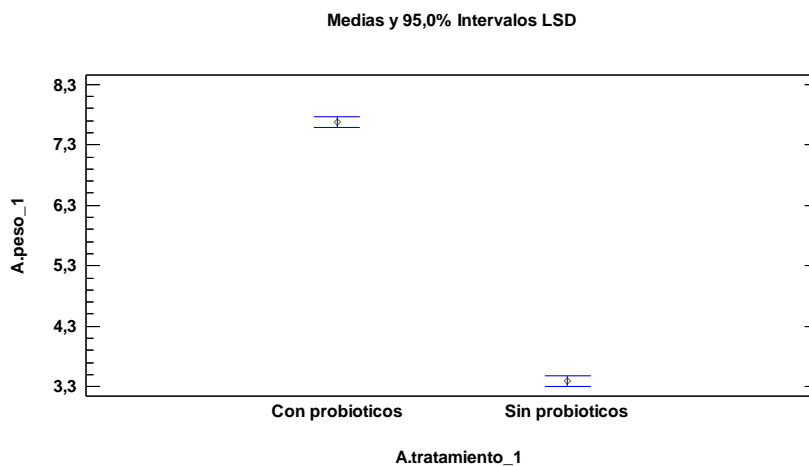
Tabla 16: Análisis de Varianza para peso (a) y talla (b) entre los tratamientos con y sin probióticos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	2550,18	1	2550,18	2289,64	0,0000
Residuo	615,925	553	1,11379		
Total (Corr.)	3166,1	554			

Análisis de Varianza para talla

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	1286,55	1	1286,55	1538,79	0,0000
Residuo	462,35	553	0,836077		

Gráfico 3. Promedio de pesos de las tilapias en el tratamiento con y sin probióticos



Los resultados encontrados muestran que el porcentaje de sobrevivencia de las tilapias en los tanques B3 y B6 fue de 90,24% y 88,27% respectivamente, mientras que en el tanque B4 el % de sobrevivencia fue de 82,60% y el B5 de 91,3%. Estos resultados muestran que el nivel de mortalidad de las tilapias en los tanques fue bajo y los animales estuvieron en condiciones favorables durante todo el tiempo de tratamiento. El % total de mortalidad fue de 12,21% para esta etapa, (Tabla 17)

Tabla 17. Número de las tilapias en cada tanque al inicio del experimento y el % de vivos por tanque hasta los 40 días

Muestras	B3	B4	B5	B6	Total
Día 0	185	185	185	185	740
Día 10	164	184	138	145	631
Día 20	156	174	134	139	603
Día 40	148	152	126	128	554
Muertos	16	32	12	17	77
% vivos	90,24	82,60	91,3	88,27	87,79

En la Tabla 18, se muestran los resultados de los parámetros zootécnicos GP, GL, TCE y CA, los cuales evidencian que los peces en la etapa de alevinos alimentados con la dieta más el probiótico mostraron valores más altos que los peces con la dieta sin probióticos, es decir que se observa un efecto positivo del probiótico sobre los parámetros medidos.

Tabla 18. Parámetros zootécnicos aplicados a cada población alimentada con y sin probióticos hasta los 40 días del ensayo

Tanques	Ganancia de peso (GP)	Ganancia de longitud cm (GL)	Tasa específica de crecimiento (TCE)	Conversión alimentaria (CA)
B3	0,18 ±0,03	0,21±0,07	3,07	0,7
B4	0,09±0,02	0,15±0,07	2,49	1,3
B5	0,08±0,02	0,16±0,08	2,41	1,1
B6	0,19±0,05	0,22±0,04	3,26	0,6

Alimentación con los probióticos encapsulados incluidos en el pellet de la dieta de 40 días de desarrollo hasta la etapa de engorde y sacrificio

En la tabla 19 se relacionan los resultados obtenidos de los análisis de varianza para el peso de las tilapias en estadio de juveniles, entre 10 g hasta 100 g, evidenciando que hubo diferencias estadísticamente significativas con un $p < 0.05$ entre ambos tratamientos. Sin embargo, la Tabla 20, muestra que, para la variable de la talla de las tilapias, en este mismo estadio de desarrollo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con un $p > 0.05$

Tabla 19. Análisis de varianza para pesos de juveniles de la tilapia entre 10 hasta los 100 gr

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	4644,07	3	1548,02	7,38	0,0001
Residuo	46997,6	224	209,811		
Total (corregido)	51641,7	227			

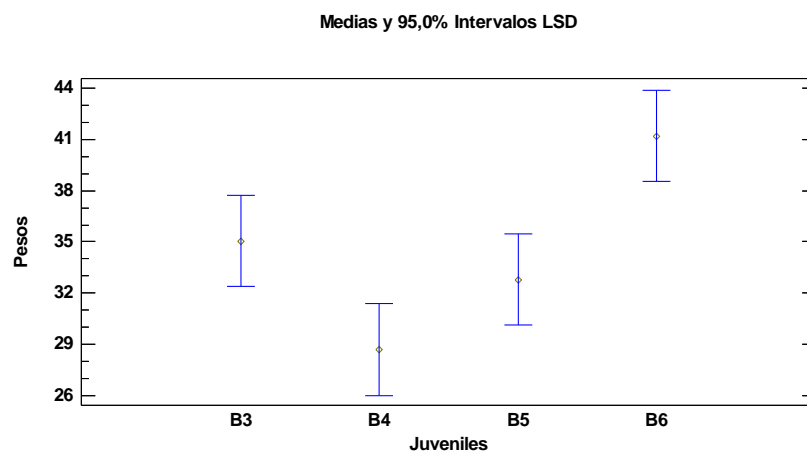
Tabla 20. Análisis de varianza para la talla de juveniles de tilapia

Fuente	Suma de	Gl	Cuadrado	Razón-	Valor-P
--------	---------	----	----------	--------	---------

	<i>Cuadrados</i>		<i>Medio</i>	<i>F</i>	
tratamiento	2,14706	3	0,715688	1,06	0,3651
Residuo	150,644	224	0,672518		
Total (corregido)	152,791	227			

En el Gráfico 5 muestra que los peces de los tanques B3 y B6 correspondientes a los suplementados con probióticos, presentaron pesos más altos que los que no fueron suplementados con ellos, como es el caso de los tanques B4 y B5, siendo el tanque B6 el que presentó mayor diferenciación entre los pesos.

Gráfico 5. Media para los pesos de juveniles hasta los 100 gramos



La Tabla 21, relaciona los resultados obtenidos de los análisis de varianza para el peso de las tilapias en estadio de preceba de 100 hasta 150 gramos, donde se evidencia que hubo diferencias estadísticamente significativas con un $p < 0.05$ entre ambos tratamientos.

Tabla 21. Análisis de varianza para los pesos de la tilapia en estadio de preceba con pesos entre 100 a 150 gramos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Preceba	23051,4	3	7683,79	2,72	0,0453
Residuo	632673	224	2824,43		
Total (corregido)	655724	227			

Por otro lado, en el análisis de varianza para la talla de las tilapias en la etapa de preceba, se evidencia que a partir de este estadio el comportamiento es diferente, ver la Tabla 22, donde se observan diferencias estadísticamente significativas con un $p < 0.05$, caso que no ocurre en el estadio anterior.

Tabla 22. Análisis de varianza para la talla de tilapia en estadio de preceba

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	71,0376	3	23,6792	40,65	0
Residuo	130,497	224	0,582577		
Total (corregido)	201,535	227			

Al igual que los datos arrojados de la varianza del peso y de la talla de las tilapias en el estadio de preceba; en la etapa de la ceba, se evidencia el mismo comportamiento, ya que hubo diferencias estadísticamente significativas con un $p < 0.05$ entre ambos tratamientos (Tabla 23 y Tabla 23).

Tabla 23. Análisis de varianza para los pesos de la tilapia en la etapa de ceba después de obtener un peso de 150 gramos

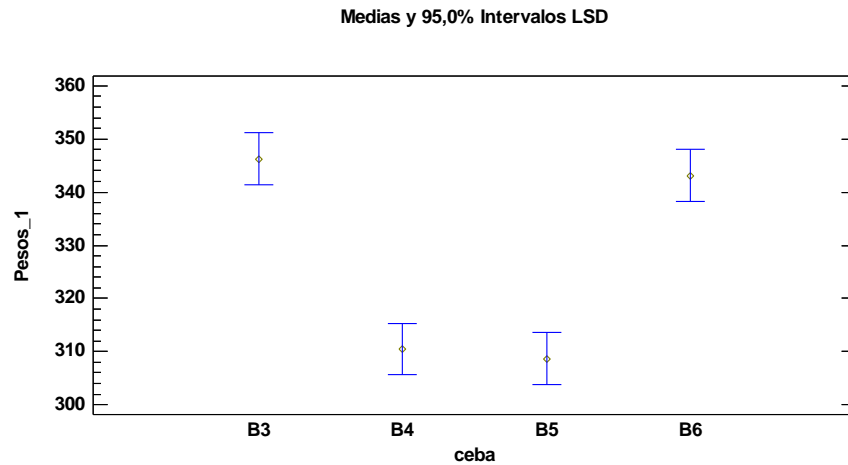
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamiento	70744,8	3	23581,6	33,56	0
Residuo	157386	224	702,618		
Total (corregido)	228131	227			

Tabla 24. Análisis de varianza para la talla de la tilapia en estadio de ceba

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Ceba	60,1883	3	20,0628	55,92	0
Residuo	80,372	224	0,358804		
Total (corregido)	140,56	227			

El Gráfico 4, muestra el comportamiento del peso de las tilapias en los tanques B3 y B6 suplementado con probióticos, y en los tanques B4 y B5 no suplementados, donde se puede observar que los pesos de las tilapias en los tanques B3 y B6, se encuentran por encima de la media, mientras que las tilapias de los tanques B4 y B5, están por debajo de estas, evidenciando la diferencia de los pesos entre los tratamientos en esta etapa de desarrollo de la tilapia.

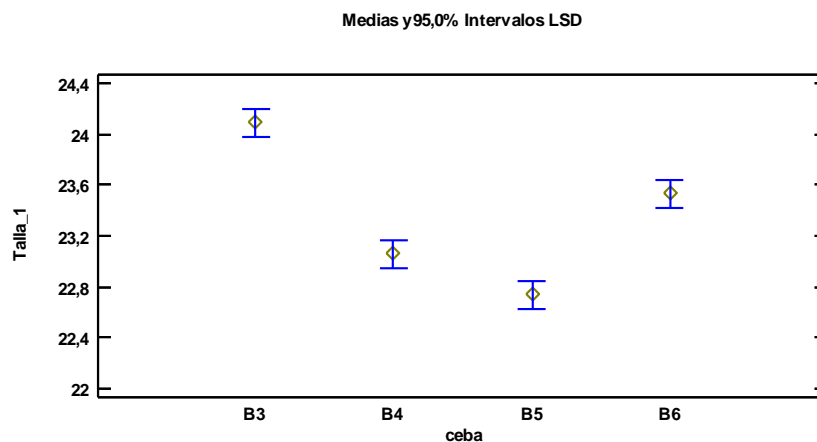
Gráfico 4. Media para los pesos de la tilapia en etapa de ceba



EI

Gráfico 5, evidencia el promedio de la talla en las tilapias suplementadas, en esta etapa, destacándose un aumento significativo en esta variable, entre las tilapias creciendo en los tanques B3 y B6, mientras que en los tanques B4 y B5, aunque, se observa un incremento en su valor de la talla, sigue siendo más significativo, las tallas de las tilapias creciendo en los tanques B3 y B6

Gráfico 5. Media para las tallas de las tilapias en etapa de ceba



En cuanto al porcentaje de mortalidad, cabe anotar que no se reportan resultados sobre este ítem desde los 40 días del crecimiento hasta la fase de ceba, en dicho experimento

Con respecto a los parámetros zootécnicos de GP, GL, y CA, estimados para esta fase del experimento, en la Tabla 25 se muestra, que en la etapa de juveniles, los animales que fueron alimentados con la dieta más el probiótico, presentaron los valores más altos en estos ítems, que los peces alimentados con la dieta sin probióticos. Nótese que en esta etapa, la conversión alimenticia fue mejor para los animales suplementados con probióticos.

Tabla 25. Parámetros zootécnicos medidos en la etapa de juveniles, alimentados con y sin probióticos

Tanques	Ganancia de peso (GP)	Ganancia de longitud cm (GL)	Conversión alimentaria (CA)
B3	0,48 ± 0,15	0,06 ± 0,01	1
B4	0,43 ± 0,11	0,10 ± 0,02	1,1
B5	0,37 ± 0,03	0,09 ± 0,01	1,1
B6	0,53 ± 0,15	0,06 ± 0,01	1

La Tabla 26, muestra, que en la etapa de preceba, los animales que fueron alimentados con la dieta más el probiótico, siguieron el mismo comportamiento de la etapa anterior manteniendo altos los valores en los ítems evaluados. La conversión alimenticia en esta etapa mejoró con respecto a la etapa anterior para los animales suplementados.

Tabla 26. Parámetros zootécnicos aplicados a la etapa de la preceba, y alimentados con y sin probióticos

Tanques	Ganancia de peso (GP)	Ganancia de longitud cm (GL)	Conversión alimentaria (CA)
B3	4,56 ± 0,35	0,15 ± 0,01	0,9
B4	4,19 ± 1,05	0,19 ± 0,02	1
B5	4,08 ± 0,85	0,18 ± 0,02	1
B6	4,30 ± 0,73	0,15 ± 0,01	0,9

En la Tabla 27, se observan los resultados de la etapa de ceba, en esta ultima etapa, los animales que fueron alimentados con la dieta más el probiótico, siguieron el mismo comportamiento de la etapa anterior, manteniendo altos los valores en los ítems evaluados. La conversión alimenticia en esta etapa siguió también el mismo comportamiento, conservando los mismos valores, siendo más alto para los animales suplementados.

Tabla 27. Parámetros zootécnicos aplicados a la etapa de ceba, alimentados con y sin probióticos

Tanques	Ganancia de peso (GP)	Ganancia de longitud cm (GL)	Conversión alimentaria (CA)
B3	0,85 ± 0,21	0,04 ± 0,01	0,9
B4	0,73 ± 0,33	0,02 ± 0,01	1
B5	0,76 ± 0,35	0,02 ± 0,01	1
B6	0,93 ± 0,22	0,03 ± 0,01	0,9

Los resultados presentados en la Tabla 28, muestran el comportamiento de todo el proceso productivo, realizado en la segunda fase del experimento, que abarcó desde la etapa de juveniles hasta la etapa de ceba. Se puede observar, que los resultados muestran la misma tendencia de mejora en los valores arrojados por los animales alimentados con los probióticos; de igual manera, la conversión alimenticia sigue siendo la mejor para las tilapias suplementadas, siendo el tratamiento B6, el que superó los valores con (0,7), lo que indica que los animales necesitaron 0,7kg de concentrado para ganar 1kg de carne

Tabla 28. Parámetros zootécnicos medidos a las tilapias alimentadas con y sin probióticos a partir de 40 días hasta la etapa de ceba.

Tanques	Ganancia de peso (GP)	Ganancia de longitud cm (GL)	Conversión alimentaria (CA)
B3	5,94 ± 0,21	0,32 ± 0,01	0,8
B4	5,38 ± 0,33	0,29 ± 0,01	0,9
B5	5,37 ± 0,35	0,28 ± 0,01	0,9
B6	5,82 ± 0,22	0,32 ± 0,01	0,7

En la

Tabla 29, están reportados todos los resultados obtenidos desde el inicio del ensayo (cero días hasta los 40 días), evidenciándose que el comportamiento de los items evaluados fue mejor en los animales alimentados con los probióticos a los no suplementados, manteniéndose siempre valores de conversión alimentaria mas bajos en los lotes de las tilapias alimentdas con concentrado suplementados con microorganismos probióticos. En cuanto a la tasa de crecimiento especifico, esta mostró que los valores arrojados por las tilapias alimentadas con concentrado suplementado con probiótico, superó los valores de los no suplementados, evidenciándose un mejor aprovechamiento de los recursos alimenticios. Por otra parte, se evaluó el factor K o factor de condición, donde se evidencia que bajo los tratamientos establecidos, los animales alimentados con concentrado suplementados con los microorganismos probioticos, tuvieron una mejor condición o bienestar con respecto a los animales no suplementados.

Tabla 29. Parámetros zootécnicos medidos a las tilapias alimentadas con y sin probióticos desde los 0 días hasta la etapa de cebsa.

Tanques	Peso		Talla		Ganancia de peso g	Ganancia de longitud cm	Conversión alimentaria	TCE	Factor K
	Peso final	Peso inicial	Talla final	Talla inicial					
B3	Peso final	Peso inicial	Talla final	Talla inicial	B3	B3	B3	B3	B3
	345	0,45	27,5	0,71	6,04	0,47	0,8	2,59	1,66
B4	Peso final	Peso inicial	Talla final	Talla inicial	B4	B4	B4	B4	B4
	312	0,4	23,38	0,69	5,47	0,40	0,9	2,56	1,50
B5	Peso final	Peso inicial	Talla final	Talla inicial	B5	B5	B5	B5	B5
	312	0,41	22,73	0,7	4,65	0,39	0,9	2,54	1,50
B6	Peso final	Peso inicial	Talla final	Talla inicial	B6	B6	B6	B6	B6
	338	0,39	27,7	0,7	5,92	0,47	0,7	2,6	1,50

Análisis de bioquímica sanguínea de la tilapias en estudio

En la Tabla 30 se muestran los resultados del hemograma y la bioquímica sanguínea realizados a las tilapias, con el fin de evaluar su bienestar a lo largo del experimento.

Tabla 30. Bioquímica sanguínea de las tilapias alimentadas con concentrado suplementado con probióticos y sin probióticos

ITEM	Unidad es de medida	Método	CON PROBIÓTICOS	SIN PROBIÓTICOS
Urea	mg/dl	Espectrofotometría	2,5	5
Triglicéridos	mg/dl	Espectrofotometría	339	533
Proteína Total	g/l	Espectrofotometría	37,9	41,65
Creatinina	mg/dl	Espectrofotometría	0,29	0,21
Ck	U/L	Espectrofotometría	3080	3550
Colesterol	mg/dl	Espectrofotometría	180,5	203
AST	U/L	Espectrofotometría	1545	715
ALT	U/L	Espectrofotometría	840	310,5
Fosfatasa alcalina	U/L	Espectrofotometría	23	20
Albúmina	g/l	Espectrofotometría	10,5	13,2
Glucosa	mg/dl	Espectrofotometría	99,5	130,5
Cortisol	ug/dl	Electro quimioluminiscencia	19,75	23,07

Fuente: Laboratorio de Estudios Clínicos Veterinarios Hno Marco Antonio Serna f.s.c

Para conocer el bienestar animal de las tilapias del estudio, se observó que algunos de los valores más relevantes fueron los obtenidos del cortisol, la glucosa, la urea y la creatinfosfoquinasa Ck. En el caso del cortisol, que es una hormona esteroidea, o glucocorticoide, es producida por la glándula suprarrenal y se libera como respuesta al estrés, sus funciones principales son incrementar el nivel de azúcar en la sangre, por lo que el valor de la glucosa va correlacionado a ella. Las mediciones de los niveles de cortisol basal y de su variación después de la exposición a un factor estresante, son buenos biomarcadores para la evaluación de estrés crónico (Romero Peñuela, Uribe-Velásquez, & Sánchez Valencia, 2011).

Se puede observar el valor de 19.75 ug/dL de cortisol, el cual fue menor en las

tilapias suplementadas con los probióticos que el de las tilapias no suplementadas 23.07 ug/dl. En relación a los niveles de la glucosa, se obtuvo un valor de 99,5mg/dl, para las tilapias suplementadas con probióticos, siendo un valor mas bajo al de las tilapias no suplementadas, el cual muestra una mayor concentración 130,5 mg/dl.

con respecto a la urea, esta se incrementa como respuesta al estrés ya que se aumenta el catabolismo proteico mostrando un aumento significativo en los animales alimentados con alimento balanceado no suplementado, dicho valor corresponde a 5 mg/dl, mientras que los suplementados presentaron valores de 2,5 mg/dl. En cuanto a la actividad de la creatinfosfoquinasa Ck, enzima muscular involucrada en la catalización para obtener (ATP), se evidencia mayor actividad en los animales no suplementados con probióticos, 3550U/L, a diferencia de las tilapias alimentadas con alimento balanceado suplementado, las cuales mostraron un valor de 3080 U/L, esto indica que el aumento de los niveles de estrés era mayor al momento del sacrificio en los animales no suplementados con probióticos, debido a que los niveles basales de CK se pueden aumentar durante la insensibilización y la toma de muestras de sangre (Romero Peñuela *et al.*, 2011).

Comparación de los epitelios intestinales de las tilapias.

En la Tabla 31 y en la Tabla 32, están reportados los resultados de los análisis de varianza realizados para el tamaño de la cresta en longitud y en amplitud. Los cuales muestran que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con $P < 0.05$

Tabla 31. Análisis de varianza para la medida longitudinal de la cresta a 40X

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón -F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamientos	5821,56	1	5821,56	179,83	0
Residuo	1230,18	38	32,373		
Total (corregido)	7051,73	39			

Tabla 32. Análisis de varianza para la medida de la amplitud de la cresta a 40X

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tratamientos	222,888	1	222,888	4,79	0,0348
Residuo	1767,37	38	46,5096		
Total (corregido)	1990,25	39			

El .

Gráfico 6, muestra que los valores de la amplitud de las crestas intestinales de las tilapias suplementadas con probióticos son mayores y se sitúan por encima de la media poblacional, con respecto a los datos arrojados por las crestas de las tilapias alimentadas sin probióticos, los cuales se ubican por debajo de la media. De igual manera, el Gráfico 7, muestra la diferencia entre las medidas longitudinales de las crestas, evidenciando que el tamaño es mayor en los tratamientos de las tilapias alimentadas con alimento balanceado suplementado con probióticos, en relación a las no suplementadas con ellos.

Gráfico 6. Media de la amplitud de la cresta de las tilapias suplementadas con probiótico y sin probiótico observadas a 40X

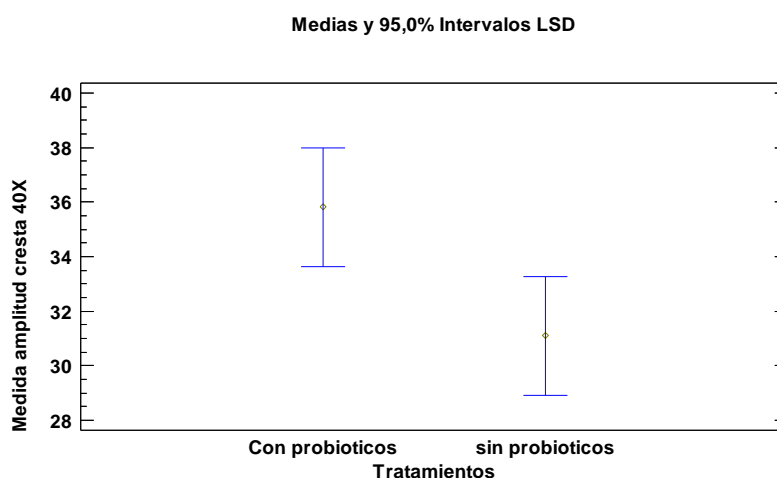
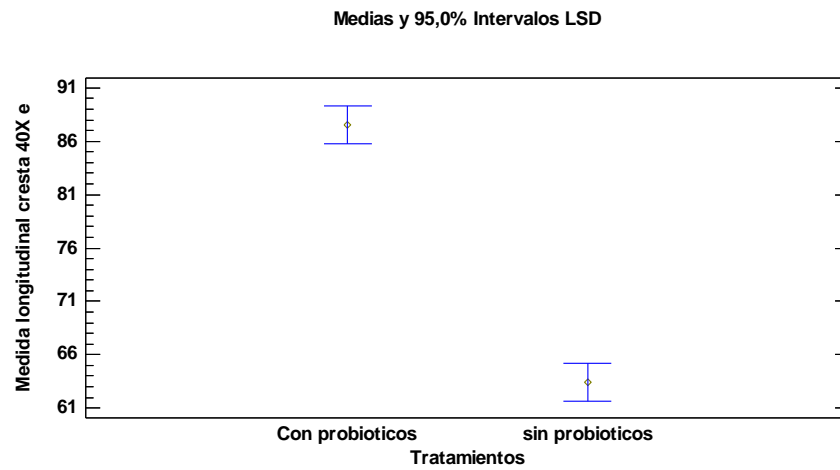
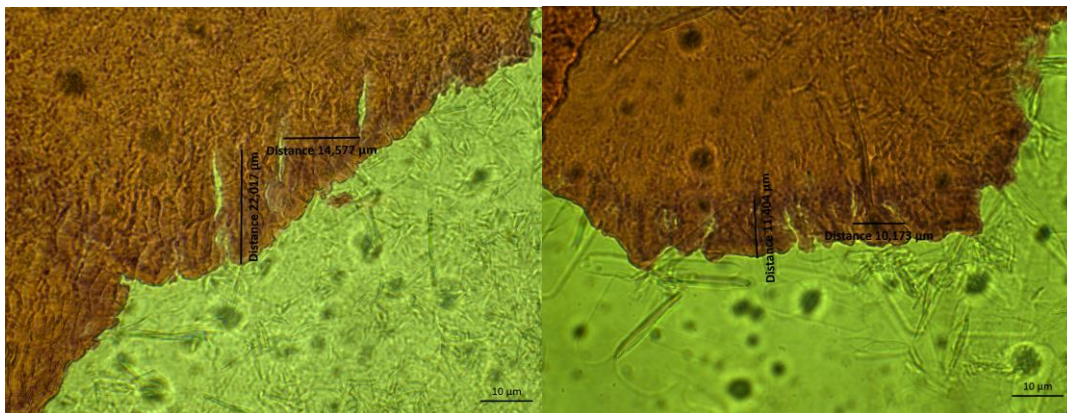


Gráfico 7. Media longitudinal de la cresta de las tilapias suplementadas con probiótico y sin probiótico observadas a 40X



Fotografía 3. Diferencia en el tamaño de las crestas intestinales de las tilapias suplementadas con y sin probióticos.



a. Ancho y longitud de las crestas intestinales suplementadas con probióticos Aoc 10X y Aob 100X
 b. Ancho y longitud de las Crestas intestinales sin probióticos Aoc 10X y Aob 100X

Discusión

Flores *et al.*, (2002) mostraron que al adicionarle los probióticos al agua de los peces, estos presentaron una mayor ganancia de peso, una tasa específica de crecimiento más alta con diferencias estadísticamente significativas, al compararse con el agua de los peces que no tubo inclusión de probióticos, lo cual corrobora los resultados obtenidos en esta investigación, en donde, en la primera etapa del experimento, en la fase de alevinos, se observó mejoramiento de la conversión alimentaria de los animales alimentados con probióticos, pertenecientes a los tanques B3 (0,7) y B6 (0,6). De igual manera, en la segunda etapa, los resultados siguen siendo favorables para los animales a los que se les suministró alimento balanceado suplementado con probióticos, con una conversión alimenticia de (0,8) para ambos tratamientos. En cuanto a la ganancia en peso entre el periodo productivo de juveniles a preceba, se observó un incremento significativo con respecto a los valores obtenidos por los animales suplementados con probióticos, ya que en los tanques B3 y B6 dicho valor para preceba fue (298gr) y (287 gr) respectivamente, mientras que para los animales no suplementados fue menor B4 (269gr) y B5 (267gr). De igual manera, los resultados obtenidos para la talla muestran que hubo diferencia entre ambos tratamientos en cuanto al valor obtenido, siendo mayor el arrojado por los animales alimentados con concentrado suplementado con probiótico, los cuales fueron para B3 (25,3 cm) y B6 (14,54 cm). En cuanto a la conversión alimenticia, se mantuvo la misma tendencia en todas las etapas productivas evaluadas, siendo mejor para los animales a los que se les dio alimento balanceado suplementado, sin embargo, dichos valores mejoraron en las etapas de preceba y en el de ceba para ambos tratamientos (B3) y (B6), con valores de (0.9) respectivamente, mientras que para las tilapias alimentadas con alimento balanceado no suplementado en las mismas etapas se obtuvieron valores de (1) en ambos tratamientos. En la etapa de juveniles el valor para los tratamientos con probióticos (B3) y (B6), fue de (1), mientras que para los no suplementados (B4) y (B5), fue

(1.1). A nivel general, en toda la etapa productiva se evidenció que la tasa de crecimiento específico para los animales alimentados con el alimento balanceado suplementado fue mayor con valores de (2,59) para el tratamiento (B3) y 2,60 para el tratamiento (B6), caso contrario ocurrió con las tilapias no suplementadas con probiótico, cuyo valor fue de (2,56) para (B4) y (2,54) para (B5).

Ng, Kim, Romano, Koh, & Yang (2014), observaron, que cuando se usaba el *Bacillus* sp, como probiótico, en la alimentación de *Oreochromis* se mejoraban las tasas de crecimiento de los estados juveniles.

Esto se corrobora con los resultados de los parámetros zootécnicos analizados en este estudio, ya que la inclusión de los probióticos de las cepas *Bacillus megaterium*, *Bac. polymyxa* y *Lb. delbueckii*, favorecieron el crecimiento de las tilapias, lo cual se evidenció en una mayor TCE, GP, GT y una buena CA. Estudios realizados por Jiménez *et al.*, (2012), son enfáticos en afirmar que el uso de las cepas comerciales aisladas del ser humano u otros mamíferos no confiere tantos beneficios a los peces en su biometría como las cepas aisladas de los mismos peces, el empleo de las cepas nativas de la tilapia en esta investigación, ratifica esta afirmación, sin embargo, para futuros ensayos se recomienda evaluar también con cepas comerciales estos mismos parámetros.

Los resultados observados tanto en la longitud como en la amplitud de las crestas intestinales, evidencian que en las tilapias alimentadas con probióticos estas fueron mayores a las no suplementadas. El aumento del tamaño de las vellosidades intestinales, provee beneficios para el animal a nivel digestivo y de la absorción de los nutrientes, la capacidad de absorción de los nutrientes y su aprovechamiento en cada segmento del intestino es proporcional al número y al tamaño de las vellosidades que se encuentren en él (Lopez Villagomez & Cruz Benavides, 2011)

Investigadores como Dueñas (2017), mostró que al alimentar con probióticos y prebióticos a juveniles de tilapia, se observó que las longitudes intestinales alcanzaron los mayores valores respecto al tratamiento control. De igual manera García (2013), encontró cambios estructurales en el intestino de *Solea*

senegalensis al adicionar dos probióticos (*Shewanella putrefaciens* y *Shewanella baltica*) en la alimentación. Otros estudios realizados por Díaz C, Medina, Villamizar, & Palencia, (2014) y Rodríguez Franco & Alsina, (2010) coinciden con este estudio, encontrando que las vellosidades varían su morfometría aumentando su longitud y ancho cuando se adicionan probióticos en la dieta en las diferentes especies de peces

Waché *et al.*, (2006). observaron que el uso de probióticos puede mejorar el crecimiento de la especie *Onchorhynchus mykiss*, debido a sus efectos beneficiosos sobre los procesos digestivos y al mejorar la tolerancia al estrés, al igual que (Mahdhi *et al.*, 2012) quienes probaron el efecto de los probióticos en la disminución de infecciones en peces, encontrando que *Bacillus* sp podía disminuir el estrés en peces marinos. Por su parte García *et al.*, (2015), evaluaron los efectos de *Bacillus toyoi* y *Bacillus subtilis* en la etapa juvenil de tilapia del Nilo, encontrando, que esta suplementación probiótica modificó el perfil hematológico, especialmente en la hemoglobina, el hematocrito, la glucosa y los niveles de neutrófilos, lo que se ve reflejado en los resultados obtenidos del presente estudio en los análisis de bienestar animal.

Conclusiones

En la dieta de las tilapias, la adición de los probióticos mitiga el efecto de los factores de estrés, lo que se ve reflejado en una mejora de la supervivencia de los organismos disminuyendo la aparición de las enfermedades y mejorando su bienestar

Bajo las condiciones experimentales estudiadas en este trabajo, los resultados permiten asegurar que los peces que consumieron la dieta con probióticos tuvieron mejor desempeño, en cuanto a los parámetros zootécnicos evaluados, por lo que se puede afirmar que el uso de las cepas nativas probióticas favorece el crecimiento de los peces. Cabe anotar que para las dos fases del experimento, los valores arrojados por los animales que consumieron el probiótico superaron los rangos obtenidos por los no alimentados con probióticos, se concluye que la primera fase mostró una conversión alimenticia mejor a la obtenida para la segunda fase, estos resultados pueden explicarse bajo el hecho de que al ser el alimento incluido dentro del pellet, se garantiza la ingesta del microorganismo por parte del pez con pérdidas menores, lo que permite mayor asimilación a nivel intestinal.

Los resultados también demostraron que la inclusión de los probióticos en el alimento de las tilapias, genera cambios significativos ($P < 0,05$) en sus vellosidades intestinales en todas las etapas productivas, incrementándose su longitud y su amplitud.

Recomendaciones

Para futuros trabajos se recomienda evaluar el uso de probióticos comerciales como control para los ensayos de los animales, y compararlos con los microorganismos nativos de la especie a estudiar.

Evaluar en el animal, los beneficios que trae el uso de los probióticos, con los antibióticos como promotores de crecimiento, y con una dieta natural, que permita correlacionar los resultados de las diferentes dietas y evaluar el estado productivo y de bienestar de los animales

Trabajar de manera independiente con dos sistemas RAS, para garantizar que los probióticos no circulen por el sistema y evaluar de manera independiente los tratamientos con y sin probióticos

Referencias

- Avella, M. a., Place, A., Du, S. J., Williams, E., Silvi, S., Zohar, Y., & Carnevali, O. (2012). Lactobacillus rhamnosus Accelerates Zebrafish Backbone Calcification and Gonadal Differentiation through Effects on the GnRH and IGF Systems. PLoS ONE, 7(9), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045572>
- Castillo, L. F. (2011). Tilapia roja. Una evolucion de 25 años, de la incertidumbre al exito. Cali 124 p. Internet: <http://sites.google.com/site/aquaverdeacuicultura2/tilapiaroja>
- Catania, C., & Avagnina, S. (2007). El análisis sensorial. Curso Superior de Degustación. INTA. 21(1)
- Comisión de las Comunidades Europeas. (2015). Directrices para una utilización prudente de los antimicrobianos en la medicina veterinaria. Diario Oficial de La Unión Europea, 7–26.
- Committee on the Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. (2011). Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/13039>
- Conpes 3676. (2010). Consolidación de la Política Sanitaria y de Inocuidad Para las Cadenas Láctea y Cárnica. Departamento Nacional de Planeacion, 1–84.
- Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., & Khutoryanskiy, V. V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. Journal of Controlled Release, 162(1), 56–67. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.003>
- Cruz, Z. (2013). Aplicación de probióticos en el sector de la acuicultura : Desafíos y Perspectivas. Industrias Pesqueras No 2063-2064, Pág. 42-45.
- Cuadro, A. W. (2010). The use of probiotics in aquaculture. Methodology application practical and simple, 1–15.

- De Araújo-Urbe, N., Ruiz-Villadiego, O., Montoya-Campuzano, O. I., & Gutiérrez-Ramírez, L. A. (2016). Viability of probiotic bacteria *Bacillus Polymyxa*, *Bacillus Megaterium* and *Lactobacillus Delbruekii* subsp. *bulgaricus* microencapsulated under the spray-drying technique. *DYNA*, 81(184), 1–6.
- Dueñas Cornejo, G. J. (2017). Respuesta morfométrica intestinal en tilapia roja (*Oreochromis* sp) alimentada con pellets enriquecidos con probióticos y prebióticos. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 58
- Garcia-marengoni, N., Moura, M. C. De, Tavares, N., & Oliveira, E. De. (2015). Short Communication Use of probiotics *Bacillus cereus* var . *toyoi* and *Bacillus subtilis* C-3102 in the diet of juvenile Nile tilapia cultured in cages, 43(3), 601–606. <https://doi.org/10.3856/vol43-issue3-fulltext-23>
- García, A., & Calvario, O. (2013). Manual de Buenas Prácticas de Producción Acuícola de Tilapia para la Inocuidad Alimentaria. *Journal of Chemical Information and Modeling* 53. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Gbassi, G. K., & Vandamme, T. (2012). Probiotic encapsulation technology: From microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*, 4(1), 149–163. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics4010149>
- Guevara, J. (2011). Probióticos en nutrición animal. Sistemas de revisión en investigación de San Marcos (SIRIVS). Recuperado [29-05-2018]: http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo_guevara_probioticos.pdf
- Gutiérrez. (2011). Digestibilidad aparente de materia seca , proteína y energía de harina de vísceras de pollo , quinua y harina de pescado en tilapia nilótica , *Oreochromis niloticus* Apparent digestibility of dry matter , protein and energy regarding fish meal , poultry by. *Orinoquia*, 15(2), 169–179. <https://doi.org/10.22579/20112629.16>
- Gutiérrez, L. A., Montoya, O. I., & Zea Vélez, J. M. (2013). Probióticos : una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. *Produccion más Limpia*. 8(1), 135–146.

- Gutiérrez Ramírez, L. A. (2016). Caracterización de cepas de *Bacillus* sp y Bacterias ácido lácticas con actividad probiótica en el tracto digestivo de Tilapia roja (*Oreochromis* sp) como potencial consorcio para procesos de microencapsulación. Universidad Nacional de Colombia. 88
- Gutiérrez Ramírez, L. A., David Ruales, C. A., Montoya Campuzano, O. I., & Betancur Gonzalez, E. M. (2016). Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis* sp). *Rev Salud Anim.* 38(2), 112–119.
- Gutiérrez ramirez, l. A., david ruales, c. A., & naranjo, r. G. (2016). Evaluación de bacterias ácido lácticas y bacterias esporuladas con actividad probiótica del tracto gastrointestinal de tilapia roja (*Oreochromis* sp). *Vitae*, 23, S34–S35.
- Huss, H. H. (1998). Evaluación de la calidad del pescado. Documento técnico de pesca. Roma. 348, 202.
- Icontec. (2014). Ntc 5700. Buenas prácticas de producción de la acuicultura (BPPA). Bogotá. Icontec
- Ifapa. (2008). Sistemas de Recirculación en Acuicultura. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. (1), 85.
- Izaurieta, M. (1994). Control de calidad de insumos y dietas acuícolas. Tomado de: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S00.htm>
- López-Acevedo, E. A., Aguirre-Guzmán, G., & Vázquez-Sauceda, M. de la L. (2013). Probióticos, una herramienta en la producción pecuaria y acuícola. *Scientia Agropecuaria*, 2, 1–6.
- Lozano María, A. C., & Arias Diana, C. M. (2008). Residuos de fármacos en alimentos de origen animal: panorama actual en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 21(1), 121–135.
- Mahdhi, A., Esteban, M. Á., Hmila, Z., Bekir, K., Kamoun, F., Bakhrouf, A., & Krifi, B. (2012). Survival and retention of the probiotic properties of *Bacillus* sp. strains under marine stress starvation conditions and their potential use as a probiotic in *Artemia* culture. *Research in Veterinary Science*, 93(3), 1151–

1159. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.05.005>
- Martínez Cruz, P., Ibáñez, A. L., Monroy Hermosillo, O. a., & Ramírez Saad, H. C. (2012). Use of Probiotics in Aquaculture. *ISRN Microbiology*, 2012, 1–13. <https://doi.org/10.5402/2012/916845>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, D. A. N. de E. (DANE). (2014). El cultivo de la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en estanques de tierra, fuente de proteína animal de excelente calidad. *Boletín Mensual Insumos y factores asociados a la producción agropecuaria*, 21 (7)
- Mohapatra, S., Chakraborty, T., Kumar, V., Deboeck, G., & Mohanta, K. N. (2013). Aquaculture and stress management: A review of probiotic intervention. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97(3), 405–430. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01301.x>
- Molina, E. (2016). Análisis sensorial. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*. 3(8) 79.
- Monroy, M. de C., Castro, T., Castro, J., Castro, G., & Ramón, D. L. (2012). Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos acuáticos. *ContactoS*, 11–18.
- Montes Ramírez, L. M. (2013). Efecto de la microencapsulación con agentes prebióticos sobre la viabilidad de microorganismos probióticos (*Lactobacillus casei* ATCC 393 y *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9469).
- Nakayama, T., Lu, H., & Nomura, N. (2009). Inhibitory effects of *Bacillus* probionts on growth and toxin production of *Vibrio harveyi* pathogens of shrimp. *Letters in Applied Microbiology*, 49(6), 679–684. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02725.x>
- Naranjo, R., Gutiérrez, L. A., & David, C. (2015). El uso de los probióticos en la industria acuícola. *Alimetos hoy*. 23(36), 165–178.
- Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, A. H., & Austin, B. (2014). Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*, 431, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.026>

- Ng, W.-K., Kim, Y.-C., Romano, N., Koh, C.-B., & Yang, S.-Y. (2014). Effects of Dietary Probiotics on the Growth and Feeding Efficiency of Red Hybrid Tilapia, *Oreochromis* sp., and Subsequent Resistance to *Streptococcus agalactiae*. *Journal of Applied Aquaculture*, 26(1), 22–31. <https://doi.org/10.1080/10454438.2013.874961>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2000). *The State of Food and Agriculture*. Agricultur series. Roma. 353
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2009). *The state of food and agriculture: Livestock in balance*. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(75\)92740-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(75)92740-3)
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2002). *Sistemas de calidad e inocuidad de los alimentos*. Roma: Ministerio de Sanidad y Consumo de España. 1-32
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2003). *Directrices para la inspección del pescado basada en los riesgos*, 17–21.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2011). *Manual básico de sanidad piscícola*. Ministerio de Agricultura Y Ganadería. Viceministerio de Ganadería, 1–52.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2016). *Fisheries & Aquaculture - Calidad e inocuidad del pescado y los productos pesqueros*. 1-56
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO (2002). *Departamento de Pesca. Residuos de Antibióticos en Productos de Acuicultura*. *El Estado Mundial de La Pesca y La Acuicultura*. 1-67
- Pablo, J., Echeverri, C., Arturo, C., Rúaless, D., & Sc, B. M. (2014). *Comparación de Parámetros zootécnicos y de calidad de agua de tres sistemas de precría de tilapia roja (Oreochromis spp.) en el Municipio de Puerto Triunfo*. Corporacion Universitaria Lasallista. 61

- Restrepo V, T. I., Diaz, G. J., & Pardo, S. C. (2012). Peces dulceacuícolas como alimento funcional : perfil de ácidos grasos en tilapia y bocachico criados en policultivo *Rev.Bio.Agro* 10(2), 44–54.
- Riaz, Q. U. A., & Masud, T. (2013). Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(3), 231–44. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.524953>
- Rica, U. D. C., González, C., Isabel, M., Rodríguez, M., Gabriela, A., Gómez, G., Gómez, C. G. (2013). Perfil de ácidos grasos de diversas especies de pescados consumidos en México. *Revista de Biología Tropical*, 61 (4)
- Ricker, W. E. (1979). Growth Rates and Models. *Fish Physiology* (Vol. VIII). [https://doi.org/10.1016/s1546-5098\(08\)60034-5](https://doi.org/10.1016/s1546-5098(08)60034-5)
- Ricker, W. E. (2010). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bull. Fish. Resources Can* 191 <https://doi.org/10.1038/108070b0>
- Romero Peñuela, M. H., Uribe-Velásquez, L. F., & Sánchez Valencia, J. A. (2011). Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosalud*. 10(26), 71–87.
- Saavedra Martínez, M. A. (2006). Manejo del cultivo de tilapia. Managua. Cidea 22
- Tafur Garzón, M. allister. (2009). La inocuidad de alimentos y el comercio internacional. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22(3), 330–338.
- Trujillo, L. E., Rivera, L., Hardy, E., Lumiquinga, E. M., Garrido, F., Chávez, J., ... País-Chanfrau, J. (2017). Estrategias Naturales para Mejorar el Crecimiento y la Salud en los Cultivos Masivas de Camarón en Ecuador. *Revista Bionatura*, 1–17.
- Vásquez-Torres, W., Yossa, M., Hernández, G., & Gutiérrez, M. (2010). Digestibilidad aparente de ingredientes de uso común en la fabricación de raciones balanceadas para tilapia roja híbrida (*Oreochromis* sp). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 11(7), 207–216.

- Ventura, J. (2015). Estados Unidos pone límites al uso de antibióticos en animales
Albéitar Portal Veterinaria. Pv Albeitar. 34
- Villanueva, M., Cardona, T., Garzón, T., & Barbosa, A. (2007). Buenas prácticas
en la producción acuícola. ICA. 45(1)
- Waché, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F., & Zambonino, J. (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. Elsevier. 258, 470–478.