

**Uso de promotores de crecimiento
Saccharomyces cerevisiae y Bacillus subtilis
en el alimento de tilapia roja (Oreochromis
sp.)**

Cornelia María Corrales Suazo

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2015

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Uso de promotores de crecimiento
Saccharomyces cerevisiae y *Bacillus subtilis* en
el alimento de tilapia roja (*Oreochromis* sp.)**

Proyecto especial de gradación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Cornelia María Corrales Suazo

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2015

**Uso de promotores de crecimiento
Saccharomyces cerevisiae y *Bacillus subtilis* en
el alimento de tilapia roja (*Oreochromis* sp.)**

Presentado por:

Cornelia María Corrales Suazo

Aprobado:

Patricio E. Paz, Ph.D.
Asesor principal

John Jairo Hincapié, Ph.D.
Directora
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria

Aaron Erazo Padilla, Ing. Agr.
Asesor Secundario

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Uso de promotores de crecimiento *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis* en el alimento de tilapia roja (*Oreochromis* sp.)

Cornelia María Corrales Suazo

Resumen: La tilapia roja (*Oreochromis* sp.) pertenece a la familia Cichlidae y proviene de una mezcla de cruzar tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), tilapia de Java roja (*Oreochromis mossambicus*) y tilapia de otras especies. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de dos promotores de crecimiento sobre varios parámetros productivos de alevines de tilapia después de la reversión sexual. El estudio se llevó a cabo en Zamorano, con una duración de 58 días de los cuales 30 días se administraron los promotores y los 28 días restantes sin promotores. La dosis que se utilizó de *B. subtilis* fue de 5.3×10^7 UFC/mL y la cantidad de Aquate Defender (*Saccharomyces cerevisiae*) fue de 5.5 g. con una densidad de 700 alevines por pila. Se usó un diseño completo al azar con medidas repetidas en el tiempo. Cada tratamiento contó con tres repeticiones. Las variables medidas fueron: peso promedio, sobrevivencia, biomasa e índice de conversión alimenticia. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en peso promedio y sobrevivencia con los tres tratamientos. En el caso de biomasa y el índice de conversión alimenticia, se observaron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) en el último muestreo. Se concluyó que el uso de los promotores seleccionados a las concentraciones seleccionadas no causa una mejora en los parámetros de producción de alevines de tilapia roja.

Palabras clave: Cíclido, crecimiento, engorde, probiótico, tilapia.

Abstract: Red tilapia (*Oreochromis* sp.) of the family of Cichlidae comes from breeding Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), red Java tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and other tilapia species. The objective of this study was to evaluate the effect of two growth promoters on several productive parameters of tilapia fingerlings after sexual reversal. The study was carried out in Zamorano, the *B. subtilis* dose was 5.3×10^7 UFC/mL and the quantity of Aquate Defender (*Saccharomyces cerevisiae*) was 5.5 g. The stocking density was 700 fingerlings per pond. The experimental design used was a completely randomized design with repeated measures, treatments being the main factors each one with three replicates. Repeated measures were analyzed in time to measure the performance of the fingerlings. The production parameters measured were average weight, survival, biomass and feed conversion rate. There were no statistical differences observed on the last sampling. It was concluded that the use of selected promoters at the selected concentration does not cause an improvement in the production parameters of the red tilapia fingerlings.

Keywords: Cichlid, fattening, growth, probiotic, tilapia.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
4. CONCLUSIONES.....	9
5. RECOMENDACIONES.....	10
6. LITERATURA CITADA.....	11

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
1. Parámetros de calidad del agua durante el ensayo con promotores de crecimiento en tilapia roja (<i>Oreochromis</i> sp.); promedio (PROM), mínimo (MIN) y máximo (MAX) de oxígeno disuelto, temperatura, amonio y pH.	5
2. Comparación del peso promedio (g) de tilapia roja (<i>Oreochromis</i> sp.) con alimento comercial y alimento comercial más promotores de crecimiento en un ensayo realizado en Zamorano, Honduras 2015	6
3. Comparación de la sobrevivencia (%) de tilapia roja (<i>Oreochromis</i> sp) con alimento comercial y alimento comercial más promotores de crecimiento en un ensayo realizado en Zamorano, Honduras 2015	7
4. Comparación de la biomasa (g) de tilapia roja (<i>Oreochromis</i> sp.) con alimento comercial y alimento comercial más promotores de crecimiento en un ensayo realizado en Zamorano, Honduras 2015	7
5. Comparación del índice de conversión alimenticia (ICA) de tilapia roja (<i>Oreochromis</i> sp.) con alimento comercial y alimento comercial más promotores de crecimiento en un ensayo realizado en Zamorano, Honduras 2015.....	8

1. INTRODUCCIÓN

La tilapia roja (*Oreochromis* sp.) pertenece a la familia Cichlidae y proviene de una mezcla de cruzar tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), tilapia de Java roja (*Oreochromis mossambicus*), y tilapia azul (*Oreochromis aureus*) con otras especies (Stickney 1994). La tilapia roja es el resultado de los múltiples cruces de la especie de tilapia *Oreochromis mossambicus* dando esa mutación en su pigmentación (Meyer 2006). Es originaria de África y es un pez herbívoro cuya temperatura ideal de cultivo varía entre 31 y 36°C. Otras características que hacen a la tilapia uno de los peces de producción más populares es su tolerancia a la alta turbidez del agua y su capacidad de resistir niveles bajos de oxígeno disuelto y agua contaminada (Pullin y McConnell 1982). La tilapia tiene una duración de vida aproximada a los 5 años y puede llegar a pesar 4 kg (Meyer 2006). La tilapia es de crecimiento relativamente lento y de reproducción abundante, al no tener control se podría tener una población alta (Bonetto y *et al.* 1985).

La tilapia se considera como un pez de buen temperamento ya que es menos agresivo que la mayoría de los cíclidos piscívoros, aunque se han dado casos que muerden las aletas de otras especies. La tilapia bajo factores como la temperatura, sexo y la densidad de población puede verse afectada su agresividad. La reproducción de la tilapia es fácil, en donde se debe de tener más cuidado en evitar la reproducción desmesurada de la tilapia y es por eso que ha sido estimulada como pez para cultivo de subsistencia.

La tilapia fue introducida en Honduras proveniente de Guatemala en el año 1936, con la introducción de la tilapia de Java (*Oreochromis mossambicus*) como un cultivo informal (FAO 2015a). La introducción de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) en Honduras se hizo en 1954 a través de un proyecto de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura para el desarrollo de la acuicultura, y el mejoramiento del nivel nutricional de la población rural (FAO 2015b). Según la FAO, la producción global de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) en el año 2012 fue de 3,197,330 toneladas (FAO 2015b).

La demanda del consumo de proteína animal para el ser humano es suplida por animales terrestres, sin embargo, la acuicultura tiene el potencial para poder ser una fuente importante de proteína animal. Lara-Flores *et al.* (2003) hicieron una comparación entre probióticos y microorganismos aislados del tracto gastrointestinal de la tilapia para mejorar el crecimiento de tilapia, obteniendo un mejor resultado con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, con la cual los peces obtuvieron una mejor eficiencia alimenticia y un mayor crecimiento.

Para lograr alcanzar una alta producción de proteína proveniente de la acuicultura se necesita alimento de alta calidad, los probióticos comunes utilizados para la producción y engorde de tilapia son: *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Streptococcus faecium* y *Lactobacillus acidophilus*. Estos microorganismos son muy utilizados en la acuicultura, combinando estos microorganismos con el alimento para que sean ingeridos por los peces en cantidades adecuadas puede resultar beneficioso. Los probióticos al estar en el tracto gastrointestinal, producen enzimas que permite a la tilapia utilizar un mayor número de carbohidratos, ayudan a la activación de la producción de enzimas digestivas (amilasas, proteasas y lipasas), permitiendo un mayor aprovechamiento de nutrientes y un mejor funcionamiento del sistema inmunológico, alimentación eficiente y exclusión de patógenos (Villamil y Martinez 2009). El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de dos promotores de crecimiento sobre los parámetros productivos de alevines de tilapia después de la reversión sexual.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la Unidad de Acuicultura “Daniel E. Meyer” de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, a 30 Km al este de Tegucigalpa en el valle de Río de Yegüare Honduras. Zamorano está a una altura de 800 msnm y cuenta con una temperatura promedio anual de 24° C y una precipitación promedio anual de 1100 mm, distribuidos mayormente en los meses de mayo a octubre.

Unidades de Producción. Se utilizaron nueve pilas de concreto con una capacidad de 7.5 m³ (2.5 × 3.0 × 1m) cada una. El agua que se utilizó para el llenado de las pilas proviene de la laguna de Monte Redondo, reservorio artificial que se encuentra ubicado en la unidad de acuicultura. Todas las unidades de producción fueron cubiertas por un sarán de invernadero blanco para evitar la depredación de los alevines por aves.

Peces. Los alevines usados en este estudio fueron producidos en la Unidad de Acuicultura “Daniel E. Meyer” y se usaron 700 alevines de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) por pila. La siembra se hizo después de que los alevines salieron del proceso de reversión sexual. Todos los alevines fueron pesados antes de liberarlos en las pilas.

Alimentación. El concentrado con el que se alimentaron los peces fue de 45% de proteína cruda de la marca ALCON cuya presentación es una harina. Se alimentaron por un mes con las dietas indicadas a cada pila, después del mes se cambió el alimento a 38% de proteína cruda, siguiendo el protocolo de alimentación de la unidad de acuicultura. La cantidad de alimento suministrada se basó en un porcentaje de biomasa, comenzando con 15% y la ración fue dividida en cuatro alimentaciones por día, por lo que la ración se hizo dos veces para la mañana y dos en la tarde. Una vez que realizado el primer muestreo después de la siembra y se calculó la biomasa de los alevines por pila, se ajustó la alimentación a 6.5% de la biomasa, seguido de 5.2% de biomasa y se finalizó el ensayo ofreciendo 5% de la biomasa. Las dietas que se utilizaron fueron: tratamiento uno (T1) con 5.3 g de *Bacillus subtilis* por 1 kg de alimento de 45% de proteína cruda, tratamiento dos (T2) con 5.5g de Aquate Defender® (*Saccharomyces cerevisiae*) por 1 kilogramo de alimento con 45% de proteína cruda y tratamiento tres (T3) con alimento comercial de 45% de proteína cruda control.

Muestreo. Se realizó un conteo de 25% de los peces por pila, seleccionados al azar sin selección alguna y fueron pesados con una báscula Ohaus ES100L. Aprovechando los muestreos se realizaron recambios de agua a las pilas, procedimiento que se realizó cada 15 días. El día del muestreo no se alimentó los peces por el estrés que adquieren por la manipulación. Diariamente se revisaron los parámetros de calidad de agua como oxígeno disuelto y temperatura con un medidor de oxígeno disuelto YSI55 y se muestreo amonio con strips para amonio (0-6.0 mg/L) marca HACH®, antes del recambio de agua.

Diseño Experimental. Se utilizó un diseño completo al azar (DCA) con medidas repetidas en el tiempo, donde los factores principales fueron los 3 tratamientos, T1 comprendido por 1 kilogramo de alimento con 45% de proteína cruda (PC) mezclado con 800 mL (5.3×10^7 UFC/mL) de *Bacillus subtilis*, T2 comprendido por 1 kilogramo de alimento con 45% PC mezclado con 5.5g de Aquate Defender (*Saccharomyces cerevisiae*) y T3 comprendido por dieta comercial de 45% PC de la marca ALCON. Cada tratamiento constó con tres repeticiones y se analizaron medidas repetidas en el tiempo para medir el desempeño de los alevines a medida crecieron. Las variables medidas fueron: peso promedio (PP), sobrevivencia, índice de conversión alimenticia (ICA) y biomasa.

Se utilizó un análisis de varianza (ANDEVA) para el análisis estadístico se hizo con el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS 2013), con una probabilidad exigida de $P \leq 0.05$ y para la separación de medias se utilizó una prueba de Duncan.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad de Agua. El Cuadro 1 presenta los parámetros de la calidad del agua medidos durante el ensayo. El oxígeno disuelto (OD) se mantuvo bajo los rangos óptimos reportados por Boyd y Hanson (2010) posiblemente por el sarán blanco de invernadero que cubría las unidades de producción evitando hasta cierto punto suficiente irradiación solar para la producción de oxígeno por fotosíntesis de las algas. La tilapia tiene la capacidad de soportar niveles de hasta 0.1 mg/L de oxígeno disuelto en el agua (Pullin y McConnel 1982), nivel al que nunca se llegó debido al uso de difusores de aire que funcionaron continuamente. La temperatura promedio del agua de las pilas durante el estudio fue un poco mayor que los rangos óptimos descritos por Meyer (2006), en comparación con otras unidades de producción de la estación acuícola pero siempre se mantuvo dentro del rango óptimo. Las lecturas de amonio se mantuvieron dentro del rango óptimo para la tilapia (Pullin y McConnel 1982) a pesar de que se encontró un leve incremento del amonio no afectó el promedio ni el crecimiento de los alevines. Los valores de pH se mantuvieron dentro de los parámetros ideales para el crecimiento de los peces según Stickney (1994).

Cuadro 1. Parámetros de calidad del agua durante el ensayo con promotores de crecimiento en tilapia roja (*Oreochromis* sp.); promedio (PROM), mínimo (MIN) y máximo (MAX) de oxígeno disuelto, temperatura, amonio y pH.

Parámetros del agua	PROM	MIN	MAX
Oxígeno disuelto (mg/L)	4.6	0.7	13.1
Temperatura (°C)	29.2	24.8	31.9
Amonio (mg/L)	0.7	0.3	3.0
pH	7.0	7.0	7.0
Oxígeno disuelto (> 4.5 mg/L)	T° (24 – 32°C)	Amonio (0.6 – 2.0 mg/L)	pH (6.5 – 8.5)

Peso promedio. A lo largo del ensayo se observó una tendencia donde los peces alimentados con el alimento comercial con *Bacillus subtilis* (ABs), presentaron mejores pesos promedios en todos los muestreos, seguido por el tratamiento control y por último el tratamiento de alimento comercial con Aquate Defender® (AAD). Igualmente, el consumo del ABs por parte de los peces era más rápido que en los otros dos tratamientos donde se observó un consumo más lento y menos voraz.

En el Cuadro 2 se puede ver una diferencia significativa entre los tratamientos en el muestreo del día 58, donde los peces alimentados con el tratamiento AAD obtuvieron un menor peso promedio (15.4 g) en comparación con los peces alimentados con el ABs

(18.8g) y aquellos alimentados con la dieta control (18.1g). Los resultados obtenidos con el alimento más *B. subtilis* son similares a los reportados por Apún-Molina *et al.* (2009). El *B. subtilis* es la bacteria más comúnmente usada para el cultivo de la tilapia en la acuicultura (Apún-Molina *et al.* 2009). El coeficiente de variación fue de 4.165 y la probabilidad fue de 0.502.

Cuadro 2. Comparación del peso promedio (g) de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) con alimento comercial y alimento comercial más promotores de crecimiento en un ensayo realizado en Zamorano, Honduras 2015.

Tratamiento	Día de Muestreo				Promedio
	16	30	45	58	
Alimento + <i>B. subtilis</i>	5.6	9.8	13.6	18.8a	11.95
Alimento + Aquate Defender®	5.5	9.1	12.7	15.4b	10.6
Control	6.03	9.5	12.8	18.1a	11.6

ab – Columnas con las letras diferentes indican una diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Probabilidad = 0.502

Coefficiente de variación = 4.165

Sobrevivencia. La sobrevivencia durante el ensayo fue excelente, siendo mayor que la sobrevivencia observada en la unidad de acuicultura bajo condiciones similares. No se encontró diferencia significativa entre los tratamientos ABs, AAD y control. Los valores promedio que se obtuvieron fueron de 99%. En el Cuadro 3 se puede observar que a lo largo del estudio no se demostró una diferencia significativa entre los tratamientos. Se puede observar en todos los tratamientos una reducción en el porcentaje de sobrevivencia debido a que los peces se estresan a medida que son manipulados. Los factores que pueden afectar la sobrevivencia y una condición sana de los peces es el estrés por la manipulación, la siembra y el transporte. El coeficiente de variación fue de 1.170 y la probabilidad fue de 0.619.

Cuadro 3. Comparación de la sobrevivencia (%) de tilapia roja (*Oreochromis* sp) con alimento comercial y alimento comercial más promotores de crecimiento en un ensayo realizado en Zamorano, Honduras 2015.

Tratamiento	Día de Muestreo				Promedio
	16	30	45	58	
Alimento + <i>Bacillus subtilis</i>	100	99	99	99	99
Alimento + Aquate Defender®	100	99	99	99	99
Control	100	99	99	99	99

Probabilidad = 0.619

Coefficiente de variación = 1.170

Biomasa. A lo largo del ensayo, en cada muestro no se observó una diferencia significativa entre los tratamientos ABs, AAD y control. Al llegar al final del ensayo (muestreo del día 58) se llega a ver una diferencia significativa entre el alimento con *B. subtilis*, el control y el alimento con Aquate Defender®. En los resultados de cada muestreo se encuentra un incremento en la biomasa que es de esperar pero simplemente hasta el día 45 no se logró observar una mejora debido a los promotores de crecimiento en comparación al control. La disminución observada del día 45 al día 58 pudo ser causada por el cambio en la presentación del alimento, donde se pasó de una harina al uso de pellets con una menor cantidad de proteína cruda y sin promotor de crecimiento. El coeficiente de variación fue de 8.849 y la probabilidad fue de 0.161.

Cuadro 4. Comparación de la biomasa (g) de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) con alimento comercial y alimento comercial más promotores de crecimiento en un ensayo realizado en Zamorano, Honduras 2015.

Tratamiento	Día de muestreo				Promedio
	16	30	45	58	
Alimento + <i>Bacillus subtilis</i>	3930	6859	9487	3644a	5980
Alimento + Aquate Defender®	3834	6364	8847	1947b	5248
Control	4187	6636	8899	3688a	5852

ab – columnas con las letras diferentes indican una diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Probabilidad = 0.161

Coefficiente de variación = 8.849

Índice de conversión alimenticia (ICA). No se observa diferencia significativa en el ICA desde la siembra hasta el día 30, que corresponde al tiempo en que se usaron los promotores de crecimiento y hasta el día 45 que corresponde al día en que se dio el alimento en harina. Se observó una diferencia significativa hasta el día 58 donde los peces que fueron alimentados con el alimento control y con el alimento más *B. subtilis* obtuvieron mejor ICA que en aquellos donde se usó alimento más Aquate Defender®. A pesar de que se encontró diferencia significativa en el último muestreo, estas diferencias no fueron tan altas para

afectar los promedios. El coeficiente de variación fue de 56.527 y la probabilidad fue de 0.344.

Cuadro 5. Comparación del índice de conversión alimenticia (ICA) de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) con alimento comercial y alimento comercial más promotores de crecimiento en un ensayo realizado en Zamorano, Honduras 2015.

Tratamiento	Día de Muestreo				Promedio
	16	30	45	58	
Alimento + <i>Bacillus subtilis</i>	1.5	0.6	1.9	1.7a	1.4
Alimento + Aquate Defender®	1.4	0.7	2.0	4.0b	2.0
Control	1.4	0.8	2.2	1.7a	1.5

ab - Columnas con letras diferentes indican una diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Probabilidad = 0.344

Coeficiente de variación = 56.527

4. CONCLUSIONES

- No se observó una mejora en los parámetros productivos de alevines de tilapia con las cantidades usadas de los promotores de crecimiento *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*.
- A pesar de que no hubo una diferencia significativa sobre los parámetros medidos, se observaron cambios que indican que pueden llegar a ser efectivos.
- Los alevines presentaron un cambio en su crecimiento y en los demás parámetros medidos al momento de cambiar el alimento y su porcentaje de proteína cruda.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar el ensayo con concentraciones más altas de *Bacillus subtilis* y del producto Aquate Defender (*Saccharomyces cerevisiae*).
- Usar los promotores de crecimiento en una etapa más tardía.
- Realizar el ensayo en época del año más cálido.

6. LITERATURA CITADA

Apún-Molina J.P., A. Santamaría-Miranda, A. Luna-González, S.F. Martínez-Díaz y M. Rojas-Contreras. 2009. Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and suboptimum temperature, *Aquaculture Research* 40: 887-894

Bonetto, A., D. Argentino y H.P. Castello. 1985. Pesca y Piscicultura en aguas continentales de America Latina, Monografía No. 31, 82-83 p.

Boyd, C.E. y T. Hanson. 2010. Dissolved-Oxygen Concentrations in Pond Aquaculture. Global Aquaculture Alliance. Auburn University, 40-41 p.

FAO. 2015a. Características, estructura y recursos del sector acuícola. Consultado en línea el 5 de febrero del 2015, Disponible en: http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_honduras/es

FAO. 2015b. Estadísticas de producción global de tilapia. Consultado en línea el 5 de febrero del 2015, Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/es

Lara-Flores M., M.A. Olvera-Novoa, B.E. Guzmán-Méndez y W. López-Madrid. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus* and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Meyer, D. 2006. Manual de prácticas de acuicultura. Zamorano, Honduras 3ra edición, 72 p.

Pullin, R.S.V. y R.H. Lowe-McConnell. 1982. The Biology and Culture of Tilapias. Makita, Metro Manila, Philippines. 122 p.

Stickney, R. 1994. Principles of aquaculture. John Wiley & Sons, Inc., 605 Third Avenue, New York. 368 p.

Villamil Díaz, L. y M.A. Martínez-Silva. 2009. Probióticos como herramienta biotecnológica en el cultivo de camarón. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras – INVEMAR* 38(2): 165-187