

Efecto de un suplemento líquido a base de *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus casei* para la alimentación de mojarra roja (*Oreochromis sp*) en etapa de alevinaje y precria

Liquid supplement effect based *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus casei* for red tilapia feeding (*Oreochromis sp*) on fish nursery and precria stage

Díaz C. Claudia*, Medina Alexis, Villamizar Angela, Palencia Diego

*Universidad de Santander- UDES, Bacteriología y Laboratorio Clínico, Avenida 4a, Esquina Calle 10 Norte.
Cúcuta, Norte de Santander-Colombia*

Recibido 10 de Mayo 2014; aceptado 05 de Junio de 2014

RESUMEN

*El aumento en los costos de producción del cultivo de mojarra roja (*Oreochromis sp*) se ve influenciado por la utilización de concentrados alimenticios a base de harina de pescado, elevando el costo en la cría y levante e incrementando de forma directa el precio final al consumidor. Por esto, se comparó el efecto entre dos tipos de alimentación, la tradicional a base de concentrado y otra a base de un suplemento alimenticio líquido a partir de microorganismos probióticos para tilapia roja (*Oreochromis sp*). Se obtuvieron fermentativamente los probióticos, se determinó su composición bromatológica, y se evaluó la ganancia de peso, supervivencia y talla de las especies en las etapas de alevinaje y precria durante 7 semanas de suministro, respecto al tratamiento control. Los resultados mostraron que el mejor peso promedio y talla se alcanzó con el tratamiento T2 (50% suplemento proteico líquido), seguido por el tratamiento con 75% de suplemento (T3), siendo éste estadísticamente similar al tratamiento con 100% de suplemento proteico (T4), quedando rezagados los tratamientos T0 y T1 correspondientes al alimento comercial (control) y 25% de suplemento, respectivamente. Se consiguió una reducción del tiempo para pasar de la etapa de alevinaje a precria en 10 días (de 45 a 35 días), lo que se traduce en mayores ganancias para el piscicultor.*

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. E-mail: clau_juli2001@hotmail.com

Palabras clave: *Alevinaje, mojarra, probióticos, proteína unicelular, *Saccharomyces cerevisiae**

ABSTRACT

*The increase in production costs of growing red tilapia (*Oreochromis* sp) is influenced by the use of food concentrates of fishmeal, raising the cost in breeding and raising and increasing directly the final consumer price. Therefore, the effect of two types of food, traditional from concentrate and another based on a liquid nutritional supplement from probiotic microorganisms for red tilapia (*Oreochromis* sp) was compared. The probiotics were produced fermentatively, their chemical composition was determined and then the weight gain, survival and size of the species under study was evaluated in the nursery and precría stage for 7 weeks supply, compared to the control treatment. The results showed that the highest average weight and height was reached with treatment T2 (50% liquid protein supplement), followed by treatment with 75% supplement (T3), this being statistically similar to treatment with 100% protein supplement (T4), leaving behind the treatments T0 and T1 for the commercial feed (control) and 25% supplement, respectively. A reduction of the time from nursery stage to precría in 10 days (45-35 days) was achieved, which means higher profits for the farmer. It is concluded that the species of red tilapia fed diets supplemented with probiotics show greater growth, feed efficiency and lower production times, being these microorganisms an appropriate additive to stimulate growth in tilapia.*

Keywords: Nursery stage, probiotics, red tilapia, *Saccharomyces cerevisiae*, single cell protein.

INTRODUCCIÓN

La tilapia roja (*Oreochromis* spp.) es el segundo pez más cultivado del mundo después de la carpa. El continente Asiático debido a su crecimiento, se convirtió en una de las cinco regiones más grandes de producción de tilapia del mundo. De igual manera, se ha demostrado que en Colombia, la acuicultura se consolida como la actividad de mayor desarrollo dentro del sector pesquero, contribuyendo de forma significativa a este índice en la producción de tilapia roja (Salazar, 1999). Uno de los factores determinantes en la producción de tilapia es el inicio de la alimentación exógena en los alevines, la cual ha sido identificada como una fase crítica en términos de su sobrevivencia, crecimiento y desarrollo, ya que los alevines son expuestos internamente a comunidades microbianas por primera vez en las etapas de alevinaje y pre-cría. No obstante, los concentrados alimenticios utilizados actualmente en la industria piscícola muchas veces no son específicos para peces. Es así como en Norte de Santander el aumento en los

costos de producción de esta especie se ve estrechamente influenciado por la utilización de concentrados alimenticios a base de harina de pescado, suministrados por empresas productoras distribuidas principalmente en el interior país, lo cual eleva el costo en la cría y levante de los mismos, debido a los diferentes sobrecostos de transporte y almacenamiento, incrementando de forma directa el precio final al consumidor. Por lo tanto, para reducir el costo de producción es importante sustituir la harina de pescado por fuentes alternativas de proteína de costo menor (Oliveira *et al.*, 2007; Toledo, 2007; Bastardo *et al.*, 2007), como lo es la proteína unicelular de tipo probiótico mediante la cual se consigue el aumento de peso y calidad en los animales. Un factor relevante en la producción de tilapia roja es el concerniente al tamaño de la partícula alimenticia (Calixto, 2011), ya que los peces poseen un sistema digestivo simple y la absorción de estas es escasa; por tanto el tamaño de la misma se

encuentra directamente relacionada con su absorción, por esto un alimento líquido es en teoría mejor aprovechado por estos organismos. Otro factor relevante son los costos de operarios o mano de obra requeridos para el mantenimiento de los estanques de cría y alimentación de los peces, por lo tanto se busca constantemente alternativas, como el sistema de alimentación por goteo que logre reducir los requerimientos de personal, mejorando los niveles de productividad de los piscicultores. El uso de probióticos en animales es relativamente nuevo, actualmente se está usando en diferentes tipos de producciones pecuarias en las cuales se puede citar los bovinos, equinos, porcinos, aves y peces. Los probióticos y prebióticos ofrecen posibles alternativas, proporcionando beneficios al huésped principalmente a través de la modulación directa o indirecta de la microbiota intestinal. Diversos modos de acción dan como resultado el aumento de las bacterias benéficas (por ejemplo, bacterias ácido lácticas y ciertos *Bacillus spp*) en el tracto gastrointestinal (GI) incluyendo la producción de

compuestos inhibitorios, la competencia con los patógenos potenciales, la inhibición de la expresión de genes de virulencia, aumento de la respuesta inmune, mejoramiento de la morfología gástrica y ayuda a la función digestiva (Balcázar *et al.*, 2006; Gatesoupe, 1999). La aplicación de los probióticos y prebióticos por tanto, puede dar lugar a un elevado nivel de salud, una mejor resistencia a las enfermedades, el crecimiento, la composición corporal, la reducción de las malformaciones y la mejora de la morfología intestinal y el equilibrio microbiano (Merrifield *et al.*, 2010). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue realizar un estudio comparativo entre dos tipos de alimentación, la tradicional a base de concentrado y otra a base de un suplemento alimenticio líquido, a partir de microorganismos probióticos para tilapia roja (*Oreochromis sp*), teniendo en cuenta variables como la calidad del agua, condiciones del medio ambiente y concentración del suplemento alimenticio, con el fin de determinar si la adición de este suplemento acelera el crecimiento de los peces en las etapas de alevinaje y precría.

MATERIALES Y MÉTODOS

Producción de suplemento alimenticio a base de Saccharomyces cerevisiae y Lactobacillus casei

A nivel de laboratorio se estudió la viabilidad de *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) y *Lactobacillus casei* (Lc) en lactosuero dulce, en un sistema de cultivo tipo batch, realizando ensayos repetitivos para poder determinar las curvas de crecimiento patrón de dichos microorganismos y parámetros cinéticos indispensables como tiempos de duplicación (td) y velocidad específica de crecimiento (μ), a través de mediciones directas de biomasa por medio de recuentos en cámara de Neubauer, para la levadura y la técnica de recuento en placa para *Lactobacillus* (microgota). Se utilizó el lactosuero dulce filtrado, tomando muestras a las cuales se les determinó el pH y acidez, estos valores oscilaron entre 6.5 +/- 0.4 para el pH y menos de 1% para acidez. Se procedió a pasteurizar el suero a 90 °C durante 5 minutos, dejándolo enfriar a baño maría para disminuir la

temperatura y facilitar la manipulación. Se dividió el lactosuero en dos: a). Suero sin hidrolizar en el cual se inocularía *Lactobacillus casei* (Marca comercial: LIOLACTIL, laboratorios ELMOR S.A.) y, b). Suero hidrolizado (que contiene enzima lactasa), donde se inocularía *Saccharomyces cerevisiae* (Levapan S.A)

Evaluación de la concentración de lactosuero

El lactosuero en polvo empleado para la realización de las curvas crecimiento, se evaluó a tres concentraciones, 5%, 7% y 10% peso/volumen, buscando la concentración a la cual se obtendrían los mayores rendimientos de biomasa para este estudio, por parte de los microorganismos de interés.

Siembra de los alevinos

Se dispusieron 100 alevinos en el estanque, durante 15 minutos, aproximadamente. Una vez

climatizados se procedió a sumergir a los alevinos en una solución de 1 litro de agua (preferiblemente del estanque) y 500 g de sal para desinfectarlos, disponiéndolos seguidamente en el estanque, separados en grupos conformados por 20 peces para cada tratamiento.

Alimentación de los animales en estudio

Se evaluaron las condiciones físico-nutricionales de los peces antes y durante el suministro del suplemento formulado, a diferentes concentraciones: T0 (100% alimento comercial), T1 (25% suplemento), T2 (50% suplemento), T3 (75% suplemento) y T4 (100% suplemento), obtenido en la fase de laboratorio. Esto se realizó evaluando el tiempo necesario para el incremento de masa de los peces y demás parámetros que se consideren necesarios, como talla y porcentaje de supervivencia.

El alimento se suministró diariamente, los pellets de alimento comercial fueron molidos, pesados y reconstituidos en un volumen de agua previamente higienizada, el volumen de esta agua de dilución se determinó por medio de pruebas de solubilidad.

El alimento reconstituido fue mezclado con el suplemento obtenido en las proporciones establecidas y suministrado a una tasa determinada en los diferentes ensayos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación del comportamiento cinético de los microorganismos *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus casei* utilizando lactosuero en polvo reconstituido

Saccharomyces cerevisiae (Sc) se desarrolló favorablemente a concentraciones de 10% de lactosuero reconstituido, condiciones en las que no presenta una fase de latencia, y mantiene una curva exponencial desde las primeras horas hasta la hora 41 de evaluación (tabla 1), lo cual afirma que el lactosuero es un medio que puede ser

Medición de peso, talla y mortalidad

La evaluación se realizó hasta que los animales en estudio superaran la etapa de alevinaje, esto se fijó según su peso (>5 g). El peso total se determinó cada ocho días durante la etapa de alevinaje, luego se procedió a evaluar la etapa de precría manteniendo la misma frecuencia de muestreo. En las dos etapas se tomaron muestras de 5 a 10 ejemplares por tratamiento, los cuales se midieron y pesaron. El registro de mortalidad en cada tratamiento se llevó diariamente mediante tablas de control diligenciadas por el personal asignado.

Análisis microbiológico del tracto intestinal de los animales en estudio

Se realizó el análisis microbiológico al tracto intestinal de los animales, al final del tiempo de evaluación, tomando muestras representativas de cada tratamiento en recipientes previamente esterilizados y sembrando dichas muestras en agar Chromocult para la determinación de coliformes. Los datos obtenidos en cada etapa fueron analizados mediante el software estadístico Statgraphics centurión XV.II, a través de un análisis ANOVA multifactorial, para evidenciar si existía diferencia significativa ($p < 0.05$), entre las variables. La diferencia entre tratamientos se realizó empleando un análisis de medias de Tukey 5%, para poder determinar cuál fue el mejor de los evaluados, lo que permitió evaluar la hipótesis establecida en el presente estudio.

utilizado para la producción de proteína unicelular, al igual que lo afirma Fuentes *et al.*, (2005) y Álvarez y Sierra (2009), al elaborar un suplemento proteico para la alimentación de pollos de engorde utilizando *Candida utilis* en este mismo sustrato.

En contraste, las curvas descritas por Sc, en las concentraciones de 5 y 7% lograron una verdadera fase exponencial casi 15 horas después de iniciada la evaluación, corroborando de esta forma los resultados obtenidos por Angarita *et al.*, (2011), quienes afirman que pequeñas variaciones en la

concentración del sustrato afectan apreciablemente el desarrollo de este microorganismo.

Tabla 1

Comportamiento cinético de los microorganismos en estudio *L. casei* y *S. cerevisiae* en lactosuero en polvo reconstituido al 10 y 7%

Microorganismo	Lactosuero	Vs	t de duplicación	Máxima concentración celular
<i>L.casei</i>	7%	0.26h ⁻¹	2.67 h	5.0x10 ⁸ UF C/mL
<i>S. cerevisiae</i>	10%	0.16h ⁻¹	4.33 h	2.0x10 ⁸ células/mL

Vs: velocidad específica, t: tiempo

Al analizar los datos cinéticos se establece que al utilizar lactosuero reconstituido hidrolizado para la producción de biomasa a partir de Sc, la concentración ideal del mismo es 10% m/m, lográndose velocidades específicas de crecimiento de 0.35h⁻¹, estos valores sobrepasan por casi el doble a los obtenidos por Angarita *et al.*, (0.17 h⁻¹) en condiciones de monocultivo para esta levadura.

Al observar el desarrollo de *Lactobacillus casei* (Lc) a lo largo del tiempo de evaluación, se observó que independientemente de la concentración del sustrato el microorganismo no presentó una marcada fase de adaptación encontrándose su fase logarítmica después de las 2 horas de iniciado el proceso hasta la hora 17 del mismo, donde inicia la fase estacionaria de su crecimiento. De las curvas descritas por este microorganismo se establece que los mejores comportamientos se presentaron en las concentraciones de 7 y 10%, las mismas tienden a solaparse mutuamente a lo largo del monitoreo, esto se afirma sabiendo que lo requerido es alcanzar altas concentraciones de biomasa en cortos periodos de tiempo, además la concentración de biomasa alcanzada al final del proceso por los tres tratamientos fue del orden de 10⁶ ufc/ml.

Producción proteína unicelular a partir de *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus casei* a escala de 20L utilizando como sustrato lactosuero en polvo reconstituido

Basándose en los resultados anteriores, se procedió a escalar el proceso en un reactor de 20

litros de capacidad, estableciendo el 70% del volumen total del equipo como volumen de trabajo.

El tiempo de proceso para la realización de las curvas de crecimiento fue establecido en 41 horas para Sc y 38 horas para Lc, según los resultados reportados se logra establecer que en estos periodos se logra la máxima concentración celular para cada microorganismo. Con respecto a los parámetros cinéticos de Sc se evidencia una reducción considerable en la velocidad específica de crecimiento (0.16 h⁻¹) y por lo tanto un aumento de sus tiempos de duplicación (4.33 h). Durante el desarrollo de Lc a un volumen de 20L, se observó claramente que el lactosuero dulce es un medio adecuado para el crecimiento del mismo, debido a la naturaleza y origen del este microorganismo; el mismo presentó una fase crecimiento logarítmico continua entre las 2 y 38 horas. Al comparar los parámetros cinéticos obtenidos anteriormente a un volumen menor con los reportados a 20L se apreció un mayor crecimiento y rendimiento de biomasa al final del proceso, debido a que se alcanzaron valores del orden de 10⁸ ufc/ml superiores a los obtenidos inicialmente (10⁶ ucf/ml), partiendo de concentraciones similares de biomasa en el tiempo cero, además se observó un incremento considerable de la velocidad específica de crecimiento para Lc con un valor de 0.26h⁻¹.

Con la información anterior, se estableció la cinética de crecimiento para estos microorganismos y se dio inicio a la fase de producción del suplemento proteico para la alimentación de los alevinos en los diferentes tratamientos.

Evaluación del efecto del suplemento proteico sobre el peso, talla y porcentaje de supervivencia de los animales en estudio (*Oreochromis sp*) en las etapas de alevinaje y precría

Al analizar los resultados se estableció que el tratamiento T2, (figura 1), correspondiente a una dieta de 50% suplemento proteico líquido, reportó los mejores resultados respecto a las demás dietas evaluadas (*p*<0.05), seguido por el tratamiento con 75% de suplemento (T3), siendo estadísticamente

similar al tratamiento con 100% de suplemento proteico (T4), quedando rezagados los tratamientos T0 y T1, correspondientes al alimento comercial (control), y 25% de suplemento, respectivamente, corroborando que la presencia de microorganismos probióticos en la dieta, estimula la ganancia en peso de los animales. Este mismo comportamiento se presentó en la talla.

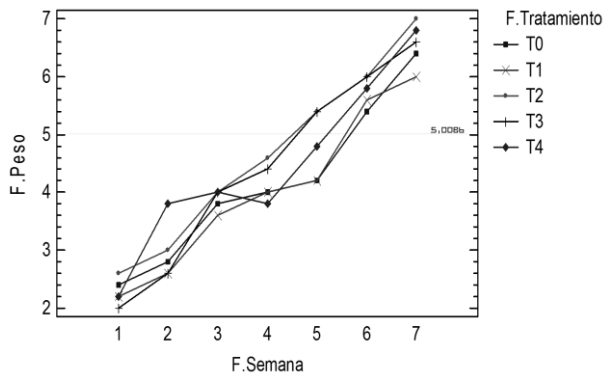


Figura 1. Interacción entre los tratamientos y el Tiempo de cría sobre el Peso de *Oreochromis sp*, según Tukey ($p < 0,05$)

Según lo establecido por el personal técnico que participo en la investigación y lo reportado por Angarita *et al.*, (2011), cuando los alevinos presentan un peso igual o superior a 5g se considera que pasan de la etapa de alevinaje a precría, el lapso de tiempo para el paso de una etapa a la otra, se encuentra establecido en 45 días como mínimo, y al examinar los datos se encontró que dos de los tratamientos T2 y T3, logran superar este peso en un periodo de 35 días reduciendo dicha etapa en 10 días, un intervalo de tiempo similar al reportado por Angarita *et al.*, (2011), utilizando estos mismos microorganismos para la alimentación de alevinos de Mojarra roja pero con un suplemento en estado sólido, lo que se traduce en mayores ganancias para el piscicultor al reducir las semanas necesarias para llegar a estas etapas; en cuanto a los tratamientos T0, T1 y T4 logran dicho cambio de etapa a los 42 días de iniciado la evaluación.

Estos resultados ratifican lo reportado por Lara *et al.*, 2002, quien afirma que las crías de tilapia

nilótica (*Oreochromis niloticus*) alimentadas con dietas suplementadas con probióticos y levaduras muestran mayor crecimiento, eficiencia alimenticia y menores tiempos de producción, lo que indica que estos microorganismos son un aditivo apropiado para estimular el crecimiento en tilapia.

Por otra parte, los tratamientos T2 y T4 presentaron el 100% de sobrevivencia de los individuos sometidos a estudio, seguidamente el tratamiento T1 presentó un índice de sobrevivencia del 90% en promedio al final del experimento, seguido del tratamiento T3 con un 75%. Por otra parte, el tratamiento T0 presentó la más baja sobrevivencia promedio del estudio 70% (figura 2). En general, las sobrevivencias de los cinco tratamientos se mantuvieron estables a partir de la cuarta semana.

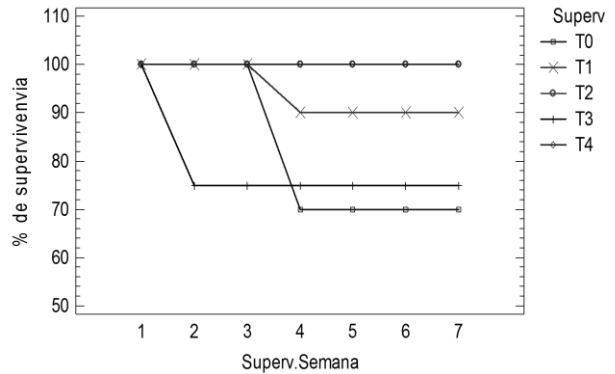


Figura 2. Interacciones entre los Tratamientos y el Tiempo de cría sobre el porcentaje de Sobrevivencia de *Oreochromis sp*, con intervalos de confianza del 95%

Dado estos resultados, se consideran excelentes según lo reportado por Ashraf (2000) y Angarita *et al.*, (2011), quienes afirman que índices de sobrevivencia superiores al 85% en estas etapas (alevinaje y pre-cría) permiten alcanzar altos niveles de animales para la venta al final del tiempo de producción.

CONCLUSIONES

La alimentación de alevines de mojarra roja (*Oreochromis sp*) por medio de una dieta compuesta por un 50% suplemento líquido (T2), se puede considerar una alternativa viable a los sistemas convencionales de alimentación en las etapas de alevinaje y pre-cría al permitir el aumento de peso y talla de los animales en estudio y además reducir notablemente la mortalidad de ellos generando tasas de sobrevivencia mayores al 90% en tres de los tratamientos evaluados (T1, T2, T4).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angarita L., Casadiegos A., Botello, J. Evaluación de un suplemento alimenticio a base de *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus casei* para la alimentación de mojarra roja (*Oreochromis sp.*) en etapa de alevinaje y precria. (2011). [Tesis de pregrado]. Colombia: Universidad de Santander.
- Ashraf, A. (2000). Probiotic in fish farming-Evaluation of a *candidate bacterial* mixture. Vattenbruks institution. Rapport 19.
- Álvarez S., Sierra Y. Producción de proteína unicelular en base a *Candida utilis*, a partir del lactosuero dulce como suplemento alimenticio para la alimentación de pollos de engorde. (2009). [Tesis de pregrado]. Colombia: Universidad de Santander.
- Bálcazar J., De Blas I., Ruiz I., Cunningham D., Vendrell D., Muzquiz J. The role of probiotics in aquaculture. (2006). *Veterinary Microbiology*. 114:173–186. Disponible en www.sciencedirect.com
- Bastardo, H., Medina, A., Bianchi, G. Utilización de proteína no convencional en dietas para iniciador de trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss*. (2007). *Informativo veterinario Albeitar*. Disponible en <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3623/Articulos-otros-temas-archivo/noticia.asp?ref=3336&pos=588>
- Calixto, N. Pargo-UNAM: Una alternativa en el mundo de la acuicultura tropical. (2011). México: IICA
- Fuentes, R., Medina, A., Botello, W. Diseño e implementación a escala laboratorio de un sistema de producción de microorganismos con potencial probiótico (*Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*) en alimentación bovina a partir de lactosuero dulce. (2005). [Tesis de pregrado]. Colombia: Universidad Francisco de Paula Santander.
- Gatesoupe F.J. The use of probiotics in aquaculture. (1999). *Aquaculture*. 180:147–165.
- Lara M., Escobar L., Olvera M. Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). (2002). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. Cancun México
- Merrifield D., Dimitroglou A., Foey A., Davies S., Baker R., Bogwald J., Castex M., Ringo E. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. (2010). *Aquaculture*. 302 (1–2):1-18.
- Oliveira J., Oliveira de Souza E., Bora P. Utilization of shrimp industry waste in the formulation of tilapia (*Oreochromis niloticus Linnaeus*) feed. (2007). *Bioresource Technology*. 98:602–606. Disponible en www.sciencedirect.com
- Salazar G. Situación de la acuicultura rural de pequeña escala en Colombia, importancia, perspectivas y estrategias para su desarrollo. (1999). *Red de Acuicultura Rural en Pequeña Escala*. Disponible en: www.red-arpe.clf
- Toledo, J. P. Procedimientos operacionales de trabajo para los aspectos nutricionales del cultivo de la tilapia. (2007). *Ministerio de la Industria Pesquera*. Cuba. 9 p.