

Evaluación de dos niveles de probiótico (*Bacillus subtilis*) en alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en fase juvenil

Evaluation of two levels of probiotic (*Bacillus subtilis*) in feed tilapia (*Oreochromis niloticus*) Initial phase.

Galdámez, J.W.

Estudiante tesista,
Departamento de Medicina Veterinaria,
Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Sáenz-Osorio, R.E.

Estudiante tesista,
Departamento de Medicina Veterinaria,
Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Marín-Hernández, D.E.

Departamento de Zootecnia,
Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Resumen

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Capacitación Chinampas, ubicado en la Carretera de Oro km 14 1/2, Cantón Cabañas, Ciudad Delgado, San Salvador; tuvo una duración de 63 días, inició en noviembre del 2015 con alevines de 14 días de edad y finalizó en enero del 2016 teniendo 70 días de vida; esta consistió en evaluar el uso de dos niveles de probiótico 1% y 2%, adicionado en el alimento de las tilapias en la fase juvenil. Se utilizaron 540 alevines de la técnica Tilapia Genéticamente Macho con pesos entre 3–5 g. La metodología estadística que se utilizó fue un diseño completamente al azar con nivel de significancia del 5%, dividido en tres tratamientos con 180 alevines; se aplicó la prueba de contrastes ortogonales para comparar cuál tratamiento en estudio produjo los mejores resultados. Los tratamientos en estudio fueron: T0 concentrado con 38% proteína, T1: concentrado con 38% proteína + 1% probiótico y T2: concentrado con 38% proteína + 2% probiótico. Las variables evaluadas fueron: peso, talla, factor de conversión alimenticia e índices de mortalidad. En la toma de datos la variable peso presentó significancia ($p < 0.05$) obteniéndose un peso final de 45.3 g, 75.3 g y 55 g; la variable talla no presentó significancia ($p > 0.05$) obteniéndose 15 cm, 18 cm y 16 cm; la variable factor de conversión alimenticia presentó significancia ($p < 0.05$) obteniéndose 1.05, 0.95 y 1, y el porcentaje de índice de mortalidad fue de 8.33%, 6.66% y 7.22%. El estudio se realizó con el fin de comparar el efecto del probiótico en la alimentación de los juveniles (pre-engorde), para lograr en un menor tiempo los pesos establecidos, y así reducir los costos de alimentación.

Palabras clave: Probiótico, Bacillus, subtilis, Oreochromis, niloticus, Fase, juvenil.

Abstract

The research was conducted in the Chinampas Training Center, located on the Carretera de Oro km 14 1/2, Canton Camping, Ciudad Delgado, San Salvador; It lasted 63 days, beginning in November 2015 with fingerling 14 days old and ended in January 2016 taking 70 days of life; this was to evaluate the use of two levels of probiotic 1% and 2%, added in the food tilapias in the juvenile stage. 540 fingerlings were used the Tilapia technique Genetically Maleweights between 3-5 g. Statistical methodology used was a completely randomized design with significance level of 5%, divided into three treatments with 180 fry; orthogonal contrasts test was applied to compare which study treatment produced the best results. The study treatments were: T0 concentrate with 38% protein, T1: protein concentrate with 38% and + 1% probiotic T2: protein concentrate with 38% + 2% probiotic. The variables evaluated were: weight, height, feed conversion and mortality rates. In making the variable weight data showed significance ($p < 0.05$) to give a final weight of 45.3 g, 75.3 g and 55 g; Variable size not show significance ($p > 0.05$) to give 15.0 cm, 18.0 cm and 16 cm; variable feed conversion showed significance ($p < 0.05$) to give 1.05, 0.95 and 1, and the percent mortality rate was 8.33%, 6.66% and 7.22%. The study was conducted in order to compare the effect of probiotic feeding juveniles (pre-fattening), to achieve in a shorter time established weights, thereby reducing feed costs.

Key words: Probiotic, Bacillus, subtilis, Oreochromis, niloticus, juvenile, phase.

Introducción

La tilapia *Oreochromis niloticus* es un pez originario del continente africano que en las últimas décadas ha sido introducido prácticamente en todas las regiones del planeta susceptibles de cultivarlo. Su resistencia a enfermedades, su fácil reproducción y su alta adaptabilidad a diferentes ambientes, alimentos y calidades de agua, lo ha hecho una de las especies más populares en la acuicultura de los países en vías de desarrollo (Vega-Villasante *et al.*, 2010). Se encuentra naturalmente distribuida por América Central, sur del Caribe, sur de Norteamérica y el sudeste asiático (NICOVITA, 2002).

La acuicultura ha tenido en los últimos años adelantos significativos en cuanto a la producción de una amplia variedad de organismos, siendo el de mayor explotación comercial la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), la cual se cultiva en sistemas semi-intensivos e intensivos, donde los requerimientos nutricionales son satisfechos mediante dietas artificiales completas con alto porcentaje de proteína (Saavedra, 2006).

Debido a las condiciones de cultivo intensivo donde se empobrece la calidad del agua y las altas densidades de siembra, las tilapias se encuentran sujetas a un estrés constante que se traduce productivamente en bajas tasas de crecimiento y eficiencia alimenticia, así como la presencia de enfermedades (Günther *et al.*, 2004).

Para sobrellevar estos problemas se ha estudiado el uso de aditivos alimenticios que minimicen los efectos del estrés crónico, reduciendo por el efecto el apareamiento de patologías asociadas. Estos aditivos suelen actuar como promotores de crecimiento, destacando las hormonas, antibióticos, ionóforos y algunas sales entre otros. El uso indiscriminado puede ocasionar efectos adversos al animal (alteraciones hormonales, intoxicación, predisposición a enfermedades) y residuales para el consumidor final (Balcázar, 2002).

Una alternativa viable es la adición de microorganismos benéficos al alimento. Los microorganismos benéficos conocidos como probióticos, mejoran el comportamiento productivo animal sin producir efectos para el consumidor final (Nutrivet, 2009).

Los probióticos son definidos como un aditivo alimenticio microbiano vivo que contribuye al equilibrio microbiano intestinal mejorando la degradación de alimento y actuando como promotores de crecimiento, por su acción sobre el intestino favoreciendo una mayor absorción y utilización de los nutrientes. Estos microorganismos ya instalados en el sistema intestinal inhiben otras poblaciones bacterianas comúnmente oportunistas en patología, y aumentan

sus productos terminales, especialmente aminoácidos libres que favorecen el sistema inmunológico de los peces (Lara *et al.*, 2002).

El uso de probióticos en animales es relativamente nuevo, actualmente se utilizan y se realizan estudios en diferentes tipos de producciones pecuarias de las cuales cabe mencionar bovinos, equinos, porcinos, conejos y aves. En pollos de engorde los probióticos se han utilizado para obtener mayor ganancia de peso y mejor conversión alimenticia. En conejos el uso de probióticos ha reducido problemas de enteritis y en cerdos problemas de diarrea, además de las mejoras en ganancia de peso y conversión alimenticia (Barrera Díaz, 2001).

De acuerdo con los resultados obtenidos en distintas especies animales, se infiere la viabilidad de la inclusión de probiótico dentro de la dieta de tilapia, esto con el fin de conocer sus efectos en términos de ganancia de peso, conversión alimenticia, talla e índice de mortalidad en juveniles de Tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*).

Materiales y Métodos

Ubicación, Duración, Unidades Experimentales

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Capacitación Chinampas ubicado en la Carretera de Oro sobre el km 14 1/2, Cantón Cabañas, Ciudad Delgado, San Salvador; geográficamente se ubica 501 msnm y a una latitud Norte 13°46'10.07"N y una longitud Oeste 89°9'41.89"O, con temperatura: mínima de 27°C y máxima de 32°C.

La fase de campo de la investigación tuvo una duración de 63 días (nueve semanas), inició el 23 de noviembre del 2015 con alevines de 14 días de edad y finalizó el 18 de enero del 2016 teniendo 70 días de edad los juveniles. Se utilizaron 540 alevines de la especie *Oreochromis niloticus* de la técnica Tilapia Genéticamente Macho (GMT) en un 99.9%, con un peso entre los rangos de 3 - 5 g.

Metodología de campo

Los alevines fueron trasladados desde el distrito de riego Atiocoyo Sur, en bolsas plásticas donde se usó 25% de agua, 50% de oxígeno y el otro 25% para amarre con banda de hule al lugar de la investigación; durante horas frescas (por la mañana), con la finalidad de evitar cambios bruscos de temperatura y altas mortalidades.

El día del recibimiento, los alevines se colocaron en el cuerpo de agua del estanque la bolsa con oxígeno cerrada durante 10 minutos para igualar las temperaturas (evitando un choque térmico).

Luego se procedió a abrir las bolsas para formar los tres tratamientos en estudio de 180 alevines, y antes de ser colocados en su respectivo estanque fueron pesados y medidos con el fin de determinar el inicio del estudio, y se realizó la medición de las variables cada siete días, tomando una muestra del 30% de su biomasa (54 alevines) por tratamiento.

De acuerdo al proceso de azarizado empleado para su ubicación quedaron de la siguiente manera: T0 o testigo concentrado, T1: concentrado + el 1% de probiótico y T2: concentrado + el 2% de probiótico (cuadro 1).

Cuadro 1. Diseño espacial de los tratamientos.

T0 Testigo concentrado	T1 Concentrado + el 1% de probiótico	T2 Concentrado + el 2% de probiótico
30 % Biomasa (54 alevines - muestra)	30 % Biomasa (54 alevines - muestra)	30 % Biomasa (54 alevines - muestra)

Se utilizó un concentrado comercial a base de trigo, maíz y harina de soya en forma de pellet flotantes con un 38% de proteína.

La cantidad de alimento ofrecido fue de acuerdo a la biomasa y al porcentaje de alimento, que fue variando según el peso vivo y la edad del alevín (cuadro 2), formulada cada semana tomando de referencia el cuadro 2, mediante las siguientes fórmulas:

Biomasa = peso promedio x número de peces

Ración = $\frac{\text{biomasa} \times \text{porcentaje de alimento}}{100}$

Cuadro 2. Alimentación recomendada para cultivos intensivos o semi-intensivos de tilapia en estanques.

Peso (g)	Edad (semanas)	Porcentaje de alimento (%)
2-4	1	10.0
5-10	2	9.0
11-15	3	6.0
16-20	4	5.0
21-30	5	4.0
31-40	6	3.5
41-60	8	3.2
61-80	10	3.0
81-105	12	2.5
106-120	14	2.2
121-160	16	1.8
161-225	18	1.5

Fuente: Tsang *et al.*, 2010.

Las distintas raciones de alimento concentrado fueron ofrecidas en tres diferentes horas del día; a las: 7:00 a.m., 11:00 a.m. y 3:00 p.m., incluyendo las raciones de alimento a las que se les adicionó probiótico. La alimentación fue ajustada cada siete días, realizándose ocho veces durante el experimento.

Cada día que se realizó la medición de las variables y parámetros la primera ración de alimento no se proporcionó alimentando hasta las 11:00 a.m., se procedió a vaciar cada uno de los estanques hasta un nivel de 20 centímetros para hacer más fácil la recolección de la muestra, con ayuda de mangueras de 10 metros de largo y 1.5 pulgadas de diámetro.

Posteriormente con un lumpe se capturó una muestra de 54 alevines depositándose en un pequeño balde plástico con agua y luego se procedió a pesarlos en báscula de reloj (previamente se calculó el peso del balde con el agua y se eliminó del peso su tara), después se procedió a la medición de la talla de los 54 alevines, la cual se realizó con una regla graduada de 20 centímetros.

Finalizando con el llenado de los estanques a un nivel de 1 metro e incorporación de los alevines a su respectivo tratamiento.

Metodología de laboratorio

El probiótico comercial a base de la bacteria *Bacillus subtilis* empleado en el desarrollo de la investigación se adquirió en presentación líquida un galón del producto, y se recomendó estar alimentando a los microorganismos cada tres días con cinco milímetros de melaza diluida para que la bacteria no se inactivará.

El probiótico fue aplicado diariamente a la ración de alimento con bomba de aspersion de 250 milímetros, procurando que este se adhiriera lo más homogéneamente posible, dejándose durante 30 minutos a temperatura ambiente; la cantidad de probiótico proporcionado en la investigación se balanceo conforme al alimento utilizado por semana a cada tratamiento en estudio (cuadro 3).

Cuadro 3. Cantidad de probiótico (ml) proporcionado durante la investigación a los tratamientos experimentales por semana y día.

Semanas	Tratamiento 1 (1% probiótico)		Tratamiento 2 (2% probiótico)	
	Cantidad probiótico ml x semana	Cantidad probiótico ml x día	Cantidad probiótico ml x semana	Cantidad probiótico ml x día
0	5.04	0.72	8.82	1.26
1	12.85	1.84	13.61	1.94
2	13.61	1.94	15.12	2.16
3	14.18	2.03	18.90	2.70
4	16.63	2.38	22.18	3.17
5	19.23	2.75	24.78	3.54
6	21.81	3.12	29.84	4.26
7	24.57	3.51	34.78	4.97
8	28.46	4.07	41.58	5.94

Se realizó un análisis bromatológico en el laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, obteniéndose que el nivel de proteína cruda determinado por el análisis fue de 37.71%, valor que difiere en lo mínimo según la viñeta del concentrado comercial que era de un nivel de proteína cruda de 38% (cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis bromatológico del concentrado comercial utilizado en la investigación.

Determinación (%)	Concentrado tilapia
Humedad total	7.02%
Proteína cruda	37.71%
Cenizas	7.945
Extracto etéreo	4.63%
Fibra cruda	2.0%
Carbohidratos	56.94%

Se realizó un análisis microbiológico en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador. El análisis microbiológico consistió en la identificación de bacterias de una muestra líquida del producto, donde a través de la técnica coloración de Gram se aisló bacilos largos Gram (+); encontrándose presencia de la bacteria *Bacillus subtilis* en el probiótico empleado en la investigación.

Medición de los parámetros físicos químicos del agua

Se realizó una medición de los parámetros físicos químicos del agua cada semana de la siguiente manera:

6:00 a.m. Se procedió a la toma de muestra de agua de cada estanque que conformaron el experimento, llenando cuidadosamente un recipiente plástico de 1,000 milímetros sin contener burbujas, y colocando la muestra en una hielera con abundante hielo para guardar sus propiedades lo mejor posible, esta fue llevada al laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, para determinar el nivel de oxígeno presente.

6:30 a.m. Se realizó la medición de la turbidez o transparencia del agua de cada estanque, para realizar esta medición se utilizó el disco secchi, para determinar la penetración luminosa del medio acuático.

8:00 a.m. Se midió el pH del medio acuático de cada estanque que conformaban el ensayo, sujetando pequeñas tiras reactivas Hydrion Test Papers en cada estanque durante 45 segundos para obtener una lectura del grado de acidez o alcalinidad.

9:00 a.m. Se procedió a la medición de la temperatura del agua de cada tratamiento en estudio, sujetando el termómetro ambiental de vidrio que mide en rango de -20°C hasta 110°C con un cordel a una profundidad de 12 centímetros durante dos minutos para obtener una lectura.

Metodología Estadística

Para la investigación se utilizó un diseño completamente aleatorio o al azar, dividido en tres tratamientos.

Los datos que se obtuvieron se les realizó análisis de varianza, mediante el programa InfoStat® versión 2016; con un nivel de significancia del 5% para cada tratamiento (Cuadro 5).

Para los tratamientos que mostraron diferencias significativas en el análisis de varianza, se aplicó la prueba de contrastes ortogonales al 5%, para determinar que tratamiento en estudio estaba produciendo los mejores efectos.

Cuadro 5. Análisis de varianza

Fuente de variación	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Tratamiento	a-1 = 2	$1/n \sum Y_i^2 - Y..^2/na$	S.C. TXS/a-1	$\frac{C.M. TXS}{C.ME.}$
Error experimental	a(n-1) = 12	S.C.TOTAL- S.C. TRAT	S.C.ERROR EXP/ a(a-1)	
Total	an-1= 14	$\sum \sum y_{ij}^2 - Y..^2/ra$		

Resultados y Discusión

Peso

El análisis de varianza, para la variable peso preciso diferencia estadística, para los tratamientos en estudio, ya que resultaron significativos ($p < 0.05$); por lo tanto, los tratamientos producen diferencias en el peso, es decir que al menos uno de los tratamientos produce los mejores efectos. En los resultados de la prueba estadística, el C1 es significativo, es decir que el T1 y T2 producen los mejores efectos en el peso respecto al T0.

Con base a los resultados de la prueba estadística, el tratamiento con mejor peso es el T1, como se observa en el cuadro 6.

Cuadro 6. Peso de los alevines durante el experimento

Tratamientos	g	Probabilidad
T0 o Testigo concentrado	45.3 ^c	
T1 concentrado + 1% probiótico	75.3 ^a	0.0231*
T2 concentrado + 2% probiótico	55 ^b	

a b c distintas letras en una misma columna, indica diferencia entre los pesos.
*datos con probabilidad < 0.05 presentan diferencia significativa

Estos datos concuerdan con los obtenidos por Guerra Bone, LG. 2011, quien evaluó el efecto de la adición de un probiótico al 1% (*Bacillus subtilis*) en la alimentación de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), durante la fase juvenil, el estudio generó como resultado una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) donde el tratamiento 1, correspondiente al tratamiento experimental (adición de probiótico al 1%) alcanzó un peso promedio de 74.13 g, mientras que el tratamiento testigo (al que no se le adicionó probiótico) alcanzó un peso promedio de 63.68 g al concluir con el experimento.

Estos resultados coinciden por los registrados por Tsang *et al.*, 2010 en sus tablas de rendimiento nutricional en cultivos semi-intensivos e intensivos de tilapia nilótica, en la que a la novena semana de desarrollo fisiológico del pez debe alcanzar un peso promedio de 70 g. Los resultados de la investigación concuerdan con los obtenidos por Tsang *et al.*, 2010 en la que el aumento de peso de los tratamientos con probióticos fue mayor al tratamiento control.

La figura 1, representa los diferentes pesos que los alevines adquirirían en cada semana de estudio, resultando una línea de tendencia marcada para el T1, observándose mayor desde la primera semana del experimento sobre los otros tratamientos en estudio.

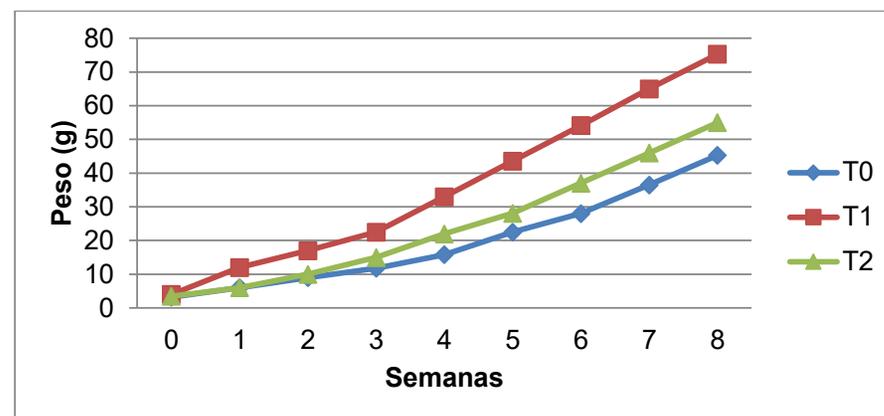


Figura 1. Peso de los alevines durante las ocho semanas de estudio.

Talla

Como se aprecia en el cuadro 7, el análisis de varianza para la variable talla no precisó diferencia estadística ($p > 0.05$) para los tratamientos en estudio; por lo tanto los tratamientos no producen diferencias en las tallas.

Estos datos no concuerdan con los obtenidos por Guerra Bone, LG. 2011, quien evaluó el efecto de la adición de un probiótico al 1% (*Bacillus subtilis*) en la alimentación de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), durante la fase juvenil, el estudio generó como resultado una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) dado que el tratamiento experimental logró una talla de 20.73 centímetros y una talla para el tratamiento testigo de 20.13 centímetros.

Probablemente una mayor variabilidad dentro de los tratamientos no haya permitido detectar las diferencias que se pueden apreciar entre las medias de los tratamientos que parecen favorecer al uso de probióticos.

Cuadro 7. Talla de los alevines durante el experimento.

Tratamientos	Cms	Probabilidad
T0 o Testigo concentrado	15.0 ^a	
T1 concentrado + 1% probiótico	18.0 ^a	0.4777*
T2 concentrado + 2% probiótico	16.0 ^a	

a : letras iguales en una misma columna, indican igualdad entre las tallas.

*datos con probabilidad > 0.05 no presentan diferencia significativa.

La figura 2, representa la talla que los alevines adquirirían en cada semana de estudio, el tratamiento 1 mostró mejor desempeño que los otros tratamientos, pero a nivel estadístico esta diferencia es no significativa.

Factor de Conversión Alimenticia

El análisis de varianza, para la variable conversión alimenticia precisa diferencia estadística para los tratamientos en estudio ($p < 0.05$); por lo que se puede decir que los tratamientos en estudio producen diferencias en la conversión alimenticia, es decir que al menos uno de los tratamientos produce los mejores efectos. En los resultados de la prueba estadística de contrastes ortogonales, el C1 es significativo es decir que el T1 y T2 producen los mejores efectos en la conversión alimenticia respecto al T0.

Con base a lo anterior, el tratamiento con mejor conversión alimenticia es el T1, como se observa en el cuadro 8. Según NICOVITA, (2008), El Factor de Conversión Alimenticia (FCA) se encuentra en el rango establecido para

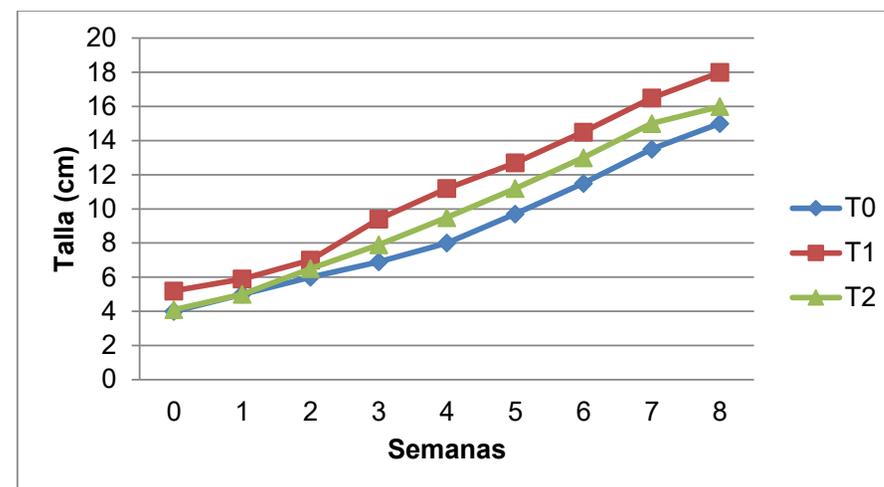


Figura 2. Talla de los alevines durante las ocho semanas de estudio.

Cuadro 8. Conversión alimenticia de los alevines de ocho semanas de edad

Tratamientos	Probabilidad
T0 o Testigo concentrado	1.05 ^c
T1 concentrado + 1% probiótico	0.95 ^a
T2 concentrado + 2% probiótico	1 ^b

a b c: distintas letras en una misma columna, indica diferencia entre las CA.

*datos con probabilidad < 0.05 presentan diferencia significativa.

el tratamiento 1 (1% probiótico), tomando como referencia de la semana uno a la semana ocho. Indicando que la tilapia en esta etapa de vida necesita 0.95 g de alimento para producir un gramo de peso, siendo más eficiente el alimento con el uso del probiótico.

Guevara *et al.*, 2003 nos indican que en un estudio realizado en Colombia, en el que adicionaron probióticos a base de bacterias como *Bacillus*, *Lactobacillus* al alimento extrudizado para tilapia roja en la fase de levante, existió un efecto positivo, puesto que hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) para tratamientos con dosis de 6, 4, y 2 g respectivamente, donde el de mejor desempeño productivo fue el tratamiento con 6 g de probiótico para la variable conversión alimenticia final, en comparación con el control o testigo que no fue aplicado probiótico, esto sustenta que la utilización de probióticos es viable en el cultivo de tilapia. Sin embargo, se asemeja a lo obtenido en la investigación donde el T1 con 1% de probiótico (10 g/kg) donde se obtuvieron las mejores conversiones alimenticias.

La figura 3, representa la conversión alimenticia de todos los alevines en cada tratamiento por semana, resultando con una línea de tendencia marcada.

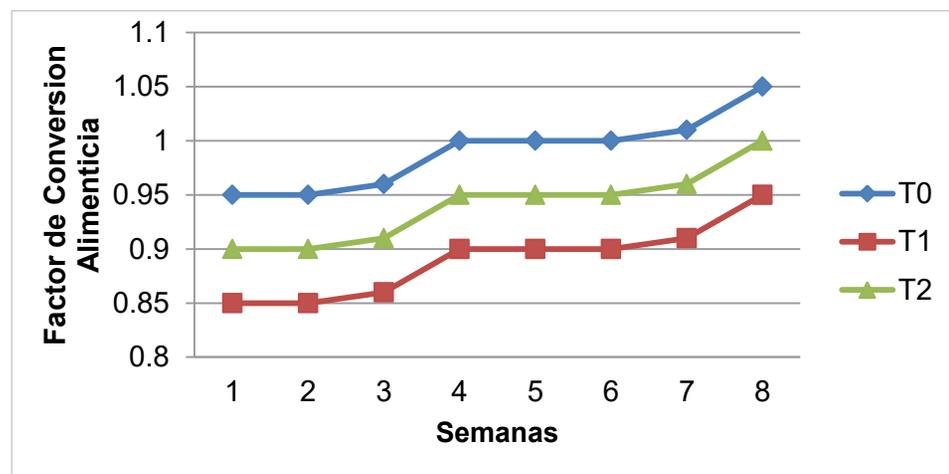


Figura 3. Conversión alimenticia de los alevines durante las ocho semanas de estudio.

Índice de mortalidad

Como se aprecia en el cuadro 9, el análisis de varianza para la variable índice de mortalidad no precisó diferencia estadística ($p > 0.05$) para los tratamientos en estudio, por lo tanto los tratamientos no producen diferencias en la mortalidad.

El índice de mortalidad se encuentra dentro de los rangos aceptables para cultivo de tilapias en el mundo, tal como lo señala Baltazar y Palomino. 2004 quienes reportan un porcentaje promedio de 10% de mortalidad natural y 10% entre aclimatación y pre-cría.

Según Popman y Green. 1990 una sobrevivencia del 70 - 80% es aceptable en la fase de pre-engorde; en la investigación existió un porcentaje de índice de mortalidad que osciló el 10%, diciendo que se encontraban en buenas condiciones de sanidad y calidad del agua.

La figura 4, representa el índice de mortalidad de los alevines durante el experimento, encontrándose en los límites establecidos.

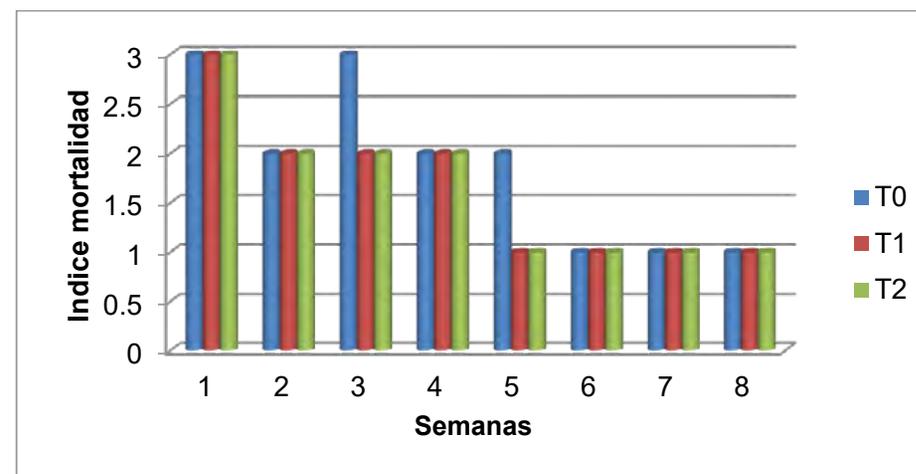


Figura 4. Índice de mortalidad de los alevines durante las ocho semanas de estudio.

Conclusiones

Al utilizar probiótico al 1% en la alimentación de los alevines incrementó significativamente el peso y la ganancia semanal; mientras la inclusión al 2% de probiótico produjo aumentos que no fueron estadísticamente significativos.

Al emplear probiótico a base de *Bacillus subtilis* en la alimentación de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), el factor de conversión alimenticia se volvió eficiente para los tratamientos experimentales; el T1 con 0.95 y el T2 con 1, siendo más eficiente el alimento combinándolo con el probiótico.

Estadísticamente no se observó diferencia significativa entre el tratamiento experimental (adición de probiótico *Bacillus subtilis*) y el tratamiento testigo para las variables talla e índice de mortalidad.

Recomendaciones

Se recomienda utilizar probiótico al 1% a base de *Bacillus subtilis* en la dieta de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) dado los resultados productivos obtenidos durante la investigación.

Se recomienda realizar estudios de comparación donde el probiótico a base de *Bacillus subtilis*, se aplique en el alimento versus medio acuático para determinar los beneficios por las diferentes vías.

Cuadro 9. Índice de mortalidad de los alevines durante el experimento

Tratamientos	%	Probabilidad
T0 o Testigo concentrado	8.33 ^a	
T1 concentrado + 1% probiótico	6.66 ^a	0.6581*
T2 concentrado + 2% probiótico	7.22 ^a	

a: letras iguales en una misma columna, indican igualdad entre la mortalidad.
*datos con probabilidad > 0.05 no presentan diferencia significativa.

Evaluar el efecto aditivo del probiótico a base de *Bacillus subtilis* durante todas las fases de desarrollo de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), para poder completar información con futuros trabajos de investigación.

Bibliografía

- Amstutz, HE; Anderson, DP; Jeffcott, LB; Loew, FM; Wolf, AM; Armour, SJ, 2000. EL MANUAL MERCK DE VETERINARIA Quinta Edición en Español, Eds. SE Aiello y A Mays, 5 ed., Barcelona, ES, EDITORIAL OCEANO, 15 p.
- Balcázar, J.L. 2002. Uso de probióticos en acuicultura: aspectos generales. CIVA, 877-881. Consultado el 17 de julio del 2017: <http://www.civa2002.org>
- Baltazar Guerrero, PM.; Palomino Ramos, AR. 2004. Manual de cultivo de tilapia: programa de transferencia de tecnología en acuicultura para pescadores artesanales y comunidades campesinas. (en línea). Ed. ex. PE. FONDEPES. Consultado 03 julio 2016. Disponible en: http://www2.produce.gov.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manual_tilapia.pdf
- Barrera Díaz, JG. 2001. Evaluación del Efecto de la Inclusión de un Probiótico Comercial en la Dieta de *Oreochromis Spen* en la Etapa de Reversión Sexual (en línea). Consultado 07 julio. 2017. Disponible en <http://www.ustadistancia.edu.co/web/academia/investigacionpublicacionesArticulos.cfm?Publicacion=1&Edicion=2&Articulo=50>http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1228.pdf
- Chou, Y. 1972. Análisis estadístico. México nueva editorial interamericana S.A. de C.V.
- Guerra Bone, L.G. 2011. Efecto de la adición de un probiótico (*Bacillus subtilis*) en la alimentación de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), durante la fase juvenil, en la Aldea Madre Vieja, Taxisco, Santa Rosa, Guatemala. Tesis Lic. Guatemala, GT. Universidad de San Carlos de Guatemala. 44 p (en línea). Consultado el 16 agosto 2016. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1228.pdf
- Guevara, J., Mateus, R., Quintero L., 2003. Evaluación de la utilización de probióticos en la fase de levante del ciclo de producción de la Mojarra roja (*Oreochromis sp.*), Universidad Nacional de Colombia. 1-5 p.
- Günther, J.; Jiménez, R., 2004. Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laboratorio; Rev.Biol.Trop. (Int.J.Trop. Biol.ISSN-0034-7744) vol. 52(4):937943, Consultado el 18 de julio del 2017 en www.tropiweb.com
- Lara Flores, M.; Escobar Briones, L.; Olvera Novoa, MA., 2002. Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). (en línea). Mérida Yucatán, MX. Consultado 20 agosto 2016. Disponible en: http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VI/archivos/A22.pdf
- NICOVITA, 2002. Manual de Crianza de Tilapia. Consultado 14 de Octubre de 2006. Consultado 26 de julio de 2017. Disponible http://www.nicovita.com.pe/pdf/esp/manuales/man_tilapia_01.pdf#search=%22tecnicas%20de%20alevinaje%20tilapia%20%22pdf%22%22.
- NICOVITA, SV. 2008. Manual de crianza de tilapia: biología de la especie (en línea). Argentina, NICOVITA. Consultado 20 marzo 2017. Disponible en <http://www.fiagro.org/sv/archivos/0/356.doc>
- Nutrivet, 2009. (Nutrición Veterinaria, GT) información técnica del *Bacillus subtilis* y del producto BIOTEC Guatemala, GT, Nutrivet (trifolio).
- Popman, T. J. y B. W. Green. 1990. Sex Rerversal of Tilapia in Eartherm Ponds International Center of Aquaculture, Auburnm University, Alabama, USA. 15pp. Disponible en: www.sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/.../04CA2008PD054.pdf
- Saavedra Martínez, MA. 2006. Manejo de cultivo de tilapia. (en línea). Managua, NI. Consultado 28 Febrero 2015. Disponible en: http://csptilapianayarit.org/informacion/Generalidades_del_cultivo_de_Tilapia.pdf

Tsang, SH; Quintanilla, M; Aguilón, CG. 2010. Manual de Reproducción y Cultivo de Tilapia. 2a ed. San Salvador, ESA, Graficalor S.A. de C.V. 29 p.

Vega Villasante FF, Cortés Lara, MC.; Zúñiga Medina, LM.; Ceballos, BJ.; Galindo-López, J.; Basto-Rosales, MER.; Nolasco Soria, H. 2010. Cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) a pequeña escala alternativa alimentaria para familias rurales y periurbanas de México. (en línea). REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria 1695-7504. 11(03): 1-15. Consultado 01 Marzo 2015. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040410/041010.pdf>