

UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE

FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA



Evaluación de los parámetros zootécnicos del “paco” (*Piaractus
brachypomus* Cuvier, 1817), alimentadas con dietas adicionadas con
microorganismos probióticos comerciales y bacterias ácido lácticas,
microencapsuladas del masato

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

AUTOR

Juan José Monroy Ramos

ASESORES

Nilda Doris Montes Villanueva

Armando Chiclla Salazar

Huaura, Perú

2020

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 023 - 2020/UCSS/FIA/DI

Siendo las 4:00 p.m. del día 27 de noviembre de 2020 - Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis, integrado por:

- | | |
|----------------------------------|-----------------|
| 1. René Pinazo Herencia | presidente |
| 2. Wilfredo Mendoza Caballero | primer miembro |
| 3. Bertha Marcelina Ruiz Jange | segundo miembro |
| 4. Nilda Doris Montes Villanueva | asesora |

Se reunieron para la sustentación de la tesis titulada **Evaluación de los parámetros zootécnicos del "paco" (*Piaractus brachypomus* Cuvier, 1817), alimentadas con dietas adicionadas con microorganismos probióticos comerciales y bacterias ácido lácticas, microencapsuladas del masato**, que presenta el bachiller en Ciencias Agrarias, **Juan José Monroy Ramos** cumpliendo así con los requerimientos exigidos por el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Agrónomo**.

Terminada la sustentación y luego de deliberar, el Jurado acuerda:

APROBAR

DESAPROBAR

La tesis, con el calificativo de **MUY BUENA** y eleva la presente Acta al Decanato de la Facultad de Ingeniería Agraria, a fin de que se declare **EXPEDITA** para conferirle el **TÍTULO** de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

Lima, 27 de noviembre de 2020.



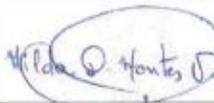
René Pinazo Herencia
PRESIDENTE



Wilfredo Mendoza Caballero
1º MIEMBRO



Bertha Marcelina Ruiz Jange
2º MIEMBRO



Nilda Doris Montes Villanueva
ASESORA

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso, por darme la sabiduría y la fuerza necesaria para mejorar cada día.

A mi madre Marcia Ramos Ticona por el amor incondicional, el apoyo y creer en mí.

A mi padre Wilbert Higinio Monroy Mamani por sus consejos y comprensión.

A mi segunda familia Lindo Samar por brindarme la confianza y motivación para culminar una de mis metas.

A Gabie Jimenez Mora por brindarme el apoyo moral y económico para culminar esta meta.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a las siguientes instituciones por el apoyo financiero para la realización de la presente investigación:

Al Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo – CYTED.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología e Innovación Tecnológica - CONCYTEC.

Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica – FONDECYT.

Por el financiamiento al proyecto 001-2017: “Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas – PROINFANT”.

De manera especial, agradecer al Ing. Juan Ignacio Pastén Monárdez, quién desde el inicio de mi carrera en la universidad hasta la actualidad, me ha brindado su amistad, orientación, confianza y consejos.

A mi alma mater la Universidad Católica Sedes Sapientiae por haber permitido lograr unas de mis metas, estudiar una carrera profesional.

En el camino encuentras a personas que iluminan tu vida, que con su apoyo alcanzas de mejor manera tus metas, a través de su amor, de sus consejos y paciencia me ayudo a concluir esta meta, gracias Kathia Lucía Lindo Samar por ser mi guía.

A mis profesores José Ruiz Ccancece, Heidi Sánchez Torres, Isabel Romero Ramírez, Eloy Munive Jáuregui y Armando Chiclla Salazar gracias por sus enseñanzas, sabios consejos y amistad.

De igual manera, agradezco el apoyo de las estudiantes Bethy Cerón Panaifo y Lizzet Lady Luis Hilario, que, con mucho entusiasmo y voluntad, decidieron apoyar en el desarrollo del experimento.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Índice general	v
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
Índice de apéndices.....	xi
Resumen	xii
Abstract.....	xiii
Introducción.....	1
Objetivos.....	3
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	4
1.1. Antecedentes	4
1.2. Bases teóricas especializadas	12
1.2.1. “Paco” (<i>Piaractus brachypomus</i>).....	12
1.2.2. Taxonomía.....	12
1.2.3. Características morfológicas	13
1.2.4. Necesidades nutricionales del “paco”	13
1.2.5. Sistemas de cultivo de los peces amazónicos peruanos	15
1.2.6. Calidad del agua.....	16
1.3. El masato	16
1.4. Las bacterias ácido lácticas	17
1.4.1. Clasificación.....	18
1.4.2. Características fermentativas de las bacterias lácticas	18
1.4.3. Mecanismos de acción de los probióticos en el microbiota intestinal de los peces	18
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	20
2.1. Diseño de la investigación.....	20
2.1.1. Lugar y fecha.....	20
2.1.2. Materiales	21
2.1.3. Descripción del experimento.....	21
2.1.4. Tratamientos experimentales.....	27
2.1.5. Unidades experimentales.....	27
2.1.6. Dieta experimental	28
2.1.7. Diseño experimental.....	28
2.1.8. Análisis estadístico de los datos	29
2.2. Identificación de las variables y su mensuración	30

2.2.1. Ganancia de peso.....	30
2.2.2. Velocidad de ganancia de peso	30
2.2.3. Crecimiento en longitud.....	30
2.2.4. Velocidad de crecimiento en longitud.....	31
2.2.5. Índice de conversión alimenticia aparente	31
2.2.6. Tasa de crecimiento específico	31
2.2.7. Incidencia de enfermedades	32
2.2.8. Tasa de supervivencia	32
2.2.9. Factor de condición	32
CAPÍTULO III: RESULTADOS	33
3.1. Aislamiento de las bacterias ácido lácticas del masato proveniente de la Amazonía Peruana	33
3.2. Viabilidad del consorcio de bacteriano en la microcápsula	34
3.3. Parámetros zootécnicos de crecimiento	35
3.3.1. Análisis de los pesos de los peces	35
3.3.2. Análisis de la longitud de los peces	37
3.3.3. Índices zootécnicos	40
Ganancia de peso	42
Velocidad de ganancia de peso	42
Crecimiento en longitud.....	43
Velocidad de crecimiento en longitud	44
Índice de conversión alimenticia aparente	45
Tasa de crecimiento específico	46
Factor de condición	47
Sobrevivencia.....	47
Incidencia de enfermedades	47
3.3.4. Parámetros físico-químicos del agua.....	48
Parámetros físicos del agua.....	48
Parámetros químicos del agua.....	50
CAPÍTULO IV: DISCUSIONES	56
4.1. Aislamiento de las bacterias ácido lácticas del masato	56
4.2. Proceso de microencapsulación.....	57
4.3. Viabilidad de las bacterias ácido lácticas del masato y los microorganismos probióticos comerciales en las microcápsulas.....	58
4.4. Índices productivos.....	60
4.5. Parámetros físicos del agua	63
4.6. Parámetros químicos del agua.....	63

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES	65
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES	66
REFERENCIAS	67
TERMINOLOGÍA	78
APÉNDICES	81

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. <i>Clasificación taxonómica del “Paco”</i>	13
Tabla 2. <i>Especificaciones del probiótico comercial VIVOLAC®</i>	25
Tabla 3. <i>Tratamientos experimentales</i>	27
Tabla 4. <i>Reporte de pHs de las muestras de masato</i>	33
Tabla 5. <i>Análisis de varianza de los pesos, considerando los tratamientos y periodos de colecta de los peces en las subparcelas</i>	35
Tabla 6. <i>Medias y desviaciones estándar de los pesos de los peces (g) según tratamientos y periodos de colecta en las subparcelas</i>	36
Tabla 7. <i>Análisis de varianza de las longitudes, considerando los tratamientos y periodos de colecta de los peces en las subparcelas</i>	38
Tabla 8. <i>Medias y desviaciones estándar de las longitudes (cm) según tratamientos y periodos de colecta en las subparcelas</i>	39
Tabla 9. <i>Índices zootécnicos (Promedio \pm Desviación Estándar) de <i>Piaractus brachypomus</i>, alimentados con 3 dietas durante 60 días de estudio</i>	41
Tabla 10. <i>Tasa de crecimiento específico</i>	46
Tabla 11. <i>Presencia de enfermedades o alteraciones</i>	48

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<i>Figura 1.</i> Plano de ubicación y puntos de muestreo de masato en los distritos de Perené, Pichanaki y Satipo	23
<i>Figura 2.</i> Proceso de encapsulación con alginato	26
<i>Figura 3.</i> Esquema del experimento según un diseño completamente al azar en parcelas divididas	29
<i>Figura 4.</i> Evaluación de la viabilidad de los consorcios bacterianos en las microcápsulas (diaria).....	34
<i>Figura 5.</i> Pesos promedio (g) de los peces según el tratamiento recibido y el periodo de colecta, mostrando la tendencia en ganancia de peso durante el periodo experimental.....	37
<i>Figura 6.</i> Longitudes promedio (cm) de los peces según el tratamiento recibido y el periodo de colecta, mostrando la tendencia en crecimiento de longitud durante el periodo experimental.....	40
<i>Figura 7.</i> Ganancia de peso de los peces según los tratamientos experimentales.....	42
<i>Figura 8.</i> Velocidad de crecimiento en peso de los peces según los tratamientos experimentales.....	43
<i>Figura 9.</i> Crecimiento en longitud de los peces según los tratamientos experimentales.....	44
<i>Figura 10.</i> Velocidad de crecimiento en longitud de los peces según los tratamientos experimentales.....	45
<i>Figura 11.</i> Índice de conversión alimenticia aparente de los peces según los tratamientos experimentales.....	46
<i>Figura 12.</i> Factor de condición de los peces experimentales (quincenal).....	47

<i>Figura 13.</i> Variación semanal de la temperatura del agua en los tratamientos experimentales.....	49
<i>Figura 14.</i> Variación semanal de la temperatura ambiental durante el experimento...	50
<i>Figura 15.</i> Variación semanal del oxígeno disuelto según los tratamientos experimentales.....	51
<i>Figura 16.</i> Variación semanal del pH según los tratamientos experimentales.....	52
<i>Figura 17.</i> Variación semanal del amonio según los tratamientos experimentales	53
<i>Figura 18.</i> Variación semanal de los sólidos totales disueltos según los tratamientos experimentales.....	54
<i>Figura 19.</i> Variación semanal de la conductividad del agua según los tratamientos experimentales.....	55

ÍNDICE DE APÉNDICES

	Pág.
Apéndice 1. Características microbiológicas de las placas seleccionadas mediante pruebas bioquímicas primarias evaluadas en las muestras de masato.....	80
Apéndice 2. Proceso de encapsulación del cultivo microbiano.....	86

RESUMEN

Esta investigación tuvo por objetivo emplear bacterias ácido lácticas, aisladas del “masato”, y microorganismos probióticos comerciales como suplemento alimenticio para los juveniles de “paco” *Piaractus brachypomus*. El estudio se realizó en el invernáculo y en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, Lima. Se aplicaron tres tratamientos: T1 (control): alimento concentrado microencapsulado con alginato (sin presencia de probióticos); T2: alimento concentrado microencapsulado con alginato, con un consorcio de bacterias ácido lácticas aisladas del masato; T3: alimento concentrado microencapsulado con alginato, con un consorcio de microorganismos probióticos comerciales VIVOLAC® (*Lactobacillus acidophilus* Moro, 1900; Hansen y Mocquot, 1970), (*Bifidobacterium bifidum* Tissier, 1900; Orla-Jensen, 1924), (*Bifidobacterium infantis* Reuter, 1963; Mattarelli *et al.*, 2008), (*Lactobacillus bulgaricus* Orla-Jensen, 1919; Rogosa y Hansen, 1971) y (*Streptococcus thermophilus* Orla-Jensen, 1919; Farrow y Collins, 1984). Se aplicó un Diseño Completamente al Azar en parcelas divididas, donde el factor A con tres tratamientos; T1 (control), T2 y T3, y tres replicas para cada uno, se asignaron a las parcelas y el factor B con 5 periodo de colecta (0, 15, 30, 45 y 69 días), se asignaron a las subparcelas. Se determinó que el efecto de las bacterias ácido lácticas provenientes del probiótico comercial y del masato tuvieron un efecto significativo en la ganancia de peso promedio y el crecimiento en longitud promedio ($p \leq 0.05$). Se obtuvo una sobrevivencia de 100 % de los peces y los resultados del análisis de varianza evidenciaron el efecto significativo de los tratamientos ($p \leq 0.05$) y los días de crecimiento ($p \leq 0.05$) en la ganancia de peso de los juveniles de “pacos”. Las microcápsulas de alginato resultaron viables para ser administradas oralmente en la alimentación de los “pacos” dentro de un periodo de 5 días. Los resultados de este estudio muestran a los lactobacilos aislados del masato como una alternativa formidable para el uso como aditivo en la alimentación de peces, emergiendo además la posibilidad de promover el uso de cepas autóctonas que reduzcan los costos de producción en el sector acuícola peruano.

Palabras clave: *Piaractus brachypomus*, lactobacilos, probióticos, masato, microencapsulación, alginato.

ABSTRACT

The objective of this research was to use lactic acid bacteria, isolated from “masato”, and commercial probiotic microorganisms as a food supplement for juveniles of “paco” *Piaractus brachypomus*. The study was carried out in the Greenhouse and in the Laboratory of Microbiology and Biotechnology of the Universidad Católica Sedes Sapientiae. Three treatments were applied: T1 (control), microencapsulated concentrated food with alginate (without the presence of probiotics); T2: concentrated microencapsulated feed with alginate, with a consortium of lactic acid bacteria isolated from the masato; T3: concentrated microencapsulated feed with alginate, with a consortium of commercial probiotic lactobacilli VIVOLAC® (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus*). A Completely Random Design was applied in divided plots, where factor A with three treatments; T1 (control), T2 and T3, and three replicates for each one, were assigned to the plots and factor B with 5 collection period (0, 15, 30, 45 and 69 days), were assigned to the subplots. The effect of lactic acid bacteria from commercial probiotic and masato was determined to have a significant effect on average weight gain and growth in average height ($p \leq 0.05$). A survival of 100% of the fish was obtained and the results of the analysis of variance showed the significant effect of the treatments ($p \leq 0.05$) and the days of growth ($p \leq 0.05$) on the weight gain of the juvenile “pacos”. The alginate microcapsules were viable to be administered orally in the feeding of the “pacos” within a period of 5 days. The results of this study show the lactobacilli isolated from masate as a formidable alternative for use as an additive in fish feed, also emerging the possibility of promoting the use of native strains that reduce production costs in the Peruvian aquaculture sector.

Key words: *Piaractus brachypomus*, probiotics, lactobacillus, masato, microencapsulation, alginate.

INTRODUCCIÓN

La producción del “paco” en el Perú ha crecido significativamente desde el año 2005, donde obtuvo una producción de 43 toneladas y en el año 2017 la cosecha aumentó hasta llegar a las 1 623.94 toneladas, siendo esta cosecha 14.39 % mayor a la del año anterior. La cosecha anual de “pacos” en el Perú en los años 2012, 2013, 2014, 2015 y 2016, fueron de 299.3, 443.19, 452.72, 825.3 y 1390.28 toneladas respectivamente (Food and Agricultural Organization [FAO], 2019). Según el (Ministerio de la producción [PRODUCE], 2015) la región con mayor producción de “pacos” en el año 2015 fue Madre de Dios con una participación del 54.9 %, seguido por San Martín con 32.69 %, Ucayali con 8.13 %, Ayacucho con 1.96 %, Junín con 0.98 % y Amazonas con 0.17 %, siendo estas, las únicas regiones productoras de “paco” actualmente en el Perú.

Los peces amazónicos como el “paco” *Piaractus brachipomus* y la “gamitana” *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) tienen un gran potencial acuícola por desarrollarse, pudiendo ser un rubro muy importante de producción económica por las condiciones climatológicas en el Perú (Food and Agricultural Organization [FAO], 2005). Además, es un alimento de alto valor proteico con 66.49 ± 2.90 %, 6.96 ± 1.81 % de grasa cruda, 20.58 ± 5.45 % de ceniza, 13.87 ± 1.02 % de calcio, 3.07 ± 1.02 % de fósforo y 2884.69 ± 258.82 kcal/kg (Barua y Chakraborty, 2011).

En la actualidad, la biomasa natural de los peces viene disminuyendo debido al incremento del consumo y la sobrepesca; por lo que se busca formas alternativas de producción de peces. Una alternativa de producción de pescado es la acuicultura, capaz de disminuir el consumo de los recursos naturales y atender la demanda de los peces de alto consumo como la “gamitana”, “boquichico”, “paiche” y “paco”; que muestran signos de sobreexplotación en las ciudades más grandes (Barthens y Guerra, 1992).

Según el Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero [FONDEPES] (2004), una actividad muy rentable puede ser la piscicultura con especies nativas amazónicas como el “paco”. Sin

embargo, existen condiciones poco favorables en los índices productivos de un cultivo acuático, estos suelen ser generalmente; la mala calidad de agua, excesos en la densidad de siembra, inadecuada alimentación y la falta de higiene que acarrea la presencia de organismos patógenos y parásitos oportunistas (Makridis *et al.*, 2005, citado por Saldaña, 2011). Actualmente, se intenta solucionar este problema con el uso de alimentos de excelente calidad, suplementos, aditivos nutricionales y antibióticos, que ayudan a suplir las deficiencias sanitarias y productivas (Balcazar, 2002). Esto ha llevado a experimentar con alimentos funcionales en la acuicultura, como los probióticos y las bacterias ácido lácticas, cuya acción influye, en la velocidad de ganancia de peso y longitud como variables de crecimiento, además, mejora la supervivencia incrementando la resistencia al estrés y a las bacterias causantes de enfermedades (Gatesoupe, 2008; Faramarzi *et al.*, 2011)

Los alimentos funcionales pueden ser suministrados en la dieta de los peces por el método de la microencapsulación. Según Favaro *et al.* (2008) actualmente existen diversas técnicas que pueden ser usadas para la microencapsulación, la selección del método es dependiente de la aplicación que será dada a la microcápsula, el tamaño deseado, el mecanismo de liberación, las propiedades fisicoquímicas, tanto del material activo como del material encapsulante. El alginato es uno de los polímeros empleados en la microencapsulación, porque es biocompatible y no representa un peligro toxicológico para los microorganismos o las células, que al ser expuestas al procesamiento y/o almacenaje se ven expuestos a los factores ambientales como la temperatura, el oxígeno, el pH, etc. (Lupo *et al.*, 2012).

Basándose en los efectos significativos que los alimentos funcionales otorgan en la salud de los organismos acuáticos, y ante la falta de estudios en el Perú que promuevan su utilización, en esta investigación se propuso el uso de un consorcio de microorganismos ácido lácticos aisladas del masato y un consorcio de microorganismos probióticos comerciales, como suplemento alimenticio para los juveniles de “paco”, administradas en microcápsulas de alginato.

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Evaluar el efecto en los parámetros zootécnicos, de la inclusión de un consorcio de bacterias ácido lácticas aisladas del masato y un consorcio de microorganismos probióticos comerciales (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*), microencapsulados en dietas para “pacos” (*Piaractus brachypomus*).

Objetivos específicos:

- Realizar el aislamiento de los microorganismos ácido lácticos del masato proveniente de la Amazonía Peruana.
- Desarrollar el proceso de microencapsulación con alginato de los microorganismos ácido lácticos aislados del masato y los microorganismos probióticos comerciales.
- Evaluar la viabilidad de los microorganismos ácido lácticos del masato y los microorganismos probióticos comerciales en las microcápsulas.
- Determinar los parámetros zootécnicos óptimos de crecimiento para los “pacos”, con la suplementación de microorganismos ácido lácticos del masato y microorganismos probióticos comerciales microencapsulados en sus dietas.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Internacionales

Dias *et al.* (2018) evaluaron el efecto de la suplementación dietética con la bacteria probiótica autóctona *Bacillus cereus* Frankland y Frankland, 1887; sobre el rendimiento del crecimiento, los parámetros hematológicos y la supervivencia de la “gamitana” *Colossoma macropomum*. El experimento fue realizado en el Laboratorio de Acuicultura de Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE, Brasil. Los alevines de “gamitana” tuvieron un peso promedio inicial de 0.94 ± 0.02 g, y fueron alimentados durante 120 días, con las siguientes dietas: Control (sin probiótico) y tres dietas suplementadas T1: 4.2×10^4 , T2: 3.9×10^6 y T3: 3.3×10^8 UFC/g. Los parámetros hematológicos y el rendimiento de crecimiento fueron evaluados mensualmente. Los peces fueron evaluados en su supervivencia al ser afrontados contra *Aeromonas hydrophila* (Chester, 1901). La bacteria probiótica *B. cereus* mejoró las ganancias de peso y longitud ($p < 0.05$) y aumentó los recuentos de neutrófilos y trombocitos ($p < 0.05$) en la “gamitana” suplementada con 3.9×10^6 UFC/g en la dieta. Los peces alimentados con dieta no suplementada presentaron la tasa de supervivencia más baja (33.4 %), mientras que los peces alimentados con dietas suplementadas con los tratamientos T1: 4.2×10^4 UFC/g, T2: 3.9×10^6 UFC/g y T3: 3.3×10^8 UFC/g de *B. cereus* tuvieron 88.8, 80.5 y 80.5 de porcentaje de supervivencia, respectivamente. En los resultados de la investigación señala que *B. cereus* fue un complemento probiótico de *C. macropomum* durante 120 días, mejorando las respuestas fisiológicas y hematológicas, lo que condujo a una mayor supervivencia en esta especie de peces.

Guidoli *et al.* (2018) aislaron y probaron *in vivo*, ocho cepas autóctonas (*Enterococcus faecium* CRL 1937, *E. faecium* CRL 1938, *Pediococcus acidilactici* CRL1939, *E. faecium* CRL 1941, *E. faecium* CRL 1940, *Bacillus subtilis* A252, *B. subtilis* A253, *B. subtilis* A254). El experimento fue realizado en el Instituto de Ictiología del Nordeste (INICNE), Facultad

de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Corrientes, Argentina. Las cepas bacterianas fueron aisladas de *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), seleccionadas por su expresión *in vitro* de propiedades beneficiosas, genéticamente identificadas, registradas en colecciones de cultivo, probadas *in vivo* individualmente y protegidas por patente (Centro de Referencia para Lactobacilos y Universidad Nacional del Nordeste, 2013; Guidoli *et al.*, 2016a y 2016b). Las bacterias del ácido lácticas y las células de *Bacillus* fueron cultivadas a 37 °C en LAPTg (1 % de extracto de levadura, 1.5 % de peptona, 1 % triptona, 1 % de glucosa, 0.1 % de Tween 80; pH 7.2) y caldo de nutrientes (Britania ©), respectivamente. Para el experimento, simultáneamente hubo un grupo de control y tres tratamientos diferentes: T1: un período de administración de 5 días que va desde la fertilización del óvulo hasta el comienzo de la alimentación exógena, T2: un período de 10 días que va desde el comienzo de la alimentación exógena hasta el final del ensayo. T3: un período de 15 días que va desde la fertilización de los huevos hasta el final del ensayo. La frecuencia de alimentación de las bacterias fue de cuatro veces al día durante los primeros 5 días, desde el sexto día las bacterias fueron administrados junto con *Artemia* sp. hasta el día 15. Al término del experimento evaluaron los parámetros productivos de biomasa total, peso medio y la supervivencia. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA), utilizando un diseño completamente al azar con un control, tres tratamientos y tres repeticiones. Asimismo, utilizaron la prueba de Duncan para comparar diferencia entre medias y para ello usaron el programa Statistica 6.0. Los resultados de las pruebas *in vivo* mostraron que todos los tratamientos inducen valores promedio más altos de biomasa total, peso medio y la supervivencia que en el grupo de control ($p < 0.05$). Sin embargo, solo los valores de peso medio presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), con los grupos administrados en los T2 y T3 que tuvieron diferencias significativas de los grupos control y el T1. La supervivencia del tratamiento control fue de 30, T1: 60, T2: 61.2 y T3: 66 % ($p < 0.05$). La biomasa producida en todos los tratamientos en la investigación fue mayor que en el grupo control, con incrementos de 140.15, 419.30 y 394.59 % para los tratamientos T1, T2 y T3 respectivamente ($p < 0.05$). Los autores concluyeron que, el uso de las ocho cepas autóctonas del microbioma de *Piaractus mesopotamicus* mejoraría los parámetros productivos de biomasa total, peso medio y la supervivencia de *Piaractus mesopotamicus* en los sistemas de producción intensiva.

Gutiérrez *et al.* (2016) evaluaron el efecto de la incorporación en la alimentación, de probióticos microencapsulados sobre los parámetros zootécnicos de peso y longitud en alevinos de tilapia roja *Oreochromis* sp. (Günther, 1889). El experimento fue realizado en la unidad de recirculación para acuicultura de la Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia, Colombia. Para ello, emplearon un alimento con 1 % de probióticos microencapsulados. Ambas dietas incluyendo el alimento sin probióticos, tuvieron 42 % de proteína bruta, 86 % de digestibilidad y 4 765.8 kcal/kg de energía. Utilizaron 631 alevinos de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) con un peso inicial promedio de 0.45 g/pez y ubicados en cuatro tanques B3 y B4 (peces alimentados con concentrado con probióticos) B5 y B6 (peces alimentados sin probióticos) con un volumen de 700 L. Además, utilizaron un diseño experimental en bloques completamente aleatorizados y las variables medidas fueron el peso y la longitud. El análisis de datos fue realizado a través de un análisis de varianza y pruebas de Duncan para comparaciones múltiples. Los resultados del análisis de varianza determinaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tratamientos ($p < 0.05$) en el peso y la longitud de los alevinos de tilapia. Los resultados evidenciaron que los peces de los tanques B3 y B6, alimentados con el concentrado más el probiótico, fueron significativamente mayores que los peces alimentados sin probióticos ($p < 0.05$). Estos resultados fueron evidenciados en la ganancia en peso y la ganancia en longitud ($p < 0.05$). La TCE (tasa de crecimiento específica) osciló entre 3.07 g y 3.26 g para los peces de los tanques B3 y B6, a diferencia de los peces en los tanques B4 con 2.49 g y B5 con 2.41 g. Los autores atribuyen esta mejoría en los parámetros, al consumo de probióticos en la dieta. Los resultados indicaron que el porcentaje de viabilidad en los tanques B3 y B6 fue de 90.24 y 88.27 % respectivamente, mientras que en el tanque B4 y B5 la sobrevivencia fue de 82.60 y 91.3 %, respectivamente. En consecuencia, los autores concluyeron que los peces alimentados con los tratamientos de concentrado más probiótico tuvieron un efecto favorable en las variables zootécnicas.

Rosas-Ledesma *et al.* (2012) evaluaron la encapsulación microbiana para el uso en alimentación animal. Este experimento fue realizado en el departamento de microbiología de la Universidad de Málaga, España. En el estudio, evaluaron las condiciones óptimas para la encapsulación en alginato de una cepa probiótica (*Shewanella putrefaciens* MacDonell y Colwell, 1986) (Pdp11), usaron diferentes cantidades de alginato (1, 2, 3 y 4 %) y cloruro

de calcio (0.5, 1, 2 y 3 %) para elaborar cápsulas de alginato. Las cápsulas elaboradas fueron divididas en dos lotes y conservadas a 4 y 22 °C. El número de células probióticas cultivables fueron determinadas en diferentes intervalos de tiempo (3, 6, 9, 20 y 30 días). Para el análisis estadístico utilizaron el programa informático Statistical Package for Social Sciences (SPSS), el análisis de la varianza fue realizado mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y para evaluar la significancia de las diferencias utilizaron la prueba de U-Mann-Whitney. Aceptaron como significativo un valor de $p < 0.05$. Los datos fueron trazados utilizando el programa Microsoft Excel. Los resultados indicaron que la cepa probiótica *Shewanella putrefaciens* (Pdp11) puede encapsularse con alginato de calcio con éxito. Los porcentajes de las células encapsuladas estaban por encima del 80 % al momento de la encapsulación, los valores más altos correspondieron a concentraciones bajas de cloruro de calcio. Los autores observaron una disminución significativa en la viabilidad bacteriana cuando las cápsulas fueron almacenados a 22 °C, independientemente del contenido de alginato de calcio y el almacenamiento de cápsulas a 4 °C siempre dio como resultado porcentajes de viabilidad superiores al 80 %. Por lo tanto, los autores concluyeron que las cápsulas con *Shewanella putrefaciens* (Pdp11) viables pueden ser almacenadas a 4 °C durante al menos 1 mes, obteniendo una tasa de supervivencia de *Shewanella putrefaciens* (Pdp11) por encima del 90 % en condiciones de refrigeración. Por el contrario, el almacenamiento de las cápsulas a 22 °C resultó una pérdida de la viabilidad de un 40 % dentro de los 30 días. Finalmente, la supervivencia de los probióticos encapsulados a través del tracto gastrointestinal del pez ha sido demostrado con la utilización de alginato en 1, 2 % y cloruro de calcio en 1, 2 %, ya que la utilización en porcentajes superiores a 3 % produjo la disminución de la viabilidad celular.

Nacionales

Valencia (2017) comparó las densidades de cultivo de *P. brachypomus* utilizando el suplemento probiótico EM. La investigación fue realizada en el Centro de Investigación Dale E. Bandy del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), Ucayali. Evaluaron el crecimiento en peso y longitud de *P. brachypomus* en 12 unidades experimentales con cuatro tratamientos T0, T1, T2 y T3; con una densidad de 5 alevinos/50 l, 5 alevinos/50 l, 10 alevinos/50 l, 20 alevinos/50 l, respectivamente; a excepción del T0 (alimentación sin probióticos), en el experimento incorporaron probiótico al alimento en

dosificación de 4 % de la ración diaria de alimentación para los tratamientos T1, T2 y T3. La tasa de alimentación fue del 5 % con suministro de alimento Purigamitana y una frecuencia de tres veces al día, evaluando parámetros fisicoquímicos (temperatura, sólidos totales, oxígeno disuelto, conductividad y pH) en la crianza de los “pacos”. Utilizaron un diseño completamente al azar (DCA) y la comparación de las densidades fue realizada a través del ANOVA y una prueba de Tukey ($p < 0.05$). En los resultados verificaron los siguientes incrementos de peso de *P. brachypomus*, T0: 19.87 g, T1: 21.55 g, T2: 19.28 g y T3: 14.74 g y para longitud T0: 11.16 cm, T1: 11.87 cm, T2: 11.52 cm y T3: 10.05 cm, con un factor de conversión aparente (FCA) de 1.7, 1.6, 1.6 y 2.40, respectivamente. La sobrevivencia fue de 100, 100, 73 y 60 %, respectivamente. Los parámetros físicos y químicos promedio fueron de 26.75 °C, 5.41 mg/l, 8.79, 1 241.03 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 774.99 mg/l para temperatura, oxígeno disuelto, pH, conductividad y sólidos totales respectivamente. Los autores concluyeron que el mayor rendimiento de *P. brachypomus* fue obtenida a una densidad de 5 alevinos/50 l en el Tratamiento 1.

Hualinga (2013) evaluó el crecimiento y composición corporal de alevinos de *Piaractus brachypomus* cultivados en corrales, en la Piscigranja del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, sede San Martín, Tarapoto, observando el efecto del probiótico EM[®] AGUA en diferentes dosis incorporadas en el alimento comercial. El diseño experimental aplicado fue un diseño completo al azar. El estudio tuvo una población experimental de 1 224 alevinos de “paco” con un peso promedio inicial de 13.29 ± 1.29 g y con una longitud promedio inicial de 8.66 ± 0.77 cm, distribuidos en 12 unidades experimentales de 51 m² cada unidad; con una densidad de 2 peces/m². Realizó cuatro tratamientos con diferentes niveles de dosificación del probiótico EM[®] AGUA en el alimento balanceado T1: 6 ml/kg, T2: 10 ml/kg, T3: 14 ml/kg y T4: 0 ml/kg con tres réplicas por tratamiento. El alimento suministrado a los alevinos fue de la marca comercial Nicovita con 28 % PB durante 120 días, realizaron la frecuencia de alimentación dos veces al día, por la mañana a las 08:30 h y por la tarde a las 17:00 h a razón del 5 % de la biomasa. Las evaluaciones para el crecimiento y composición corporal se realizaron cada 20 días. Los datos obtenidos fueron procesados por el programa Excel y el análisis fue mediante un ANOVA ($p < 0.05$) utilizando el programa estadístico SPSS versión 2013. Los resultados evidenciaron que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$); sin embargo, el tratamiento

T1 tuvo valores más alentadores con un peso y longitud final de 304.33 ± 43.85 g y 23.10 ± 1.38 cm; ganancia de peso de 290.5 ± 43.9 g; en cuanto al índice de conversión alimenticia aparente (ICAA) fue de 1.5 ± 0.2 ; La tasa de crecimiento específico (TCE) fue de $2.6 \text{ g} \pm 0.2 \text{ g}$ y la sobrevivencia de $100 \% \pm 0.0$. La tasa de mortalidad reportada por el autor del estudio puso en evidencia el alto grado de adaptación de esta especie a los alimentos suplementados con probióticos. El uso de probiótico EM[®] AGUA en el cultivo de *Piaractus brachypomus*, puede ser considerada una opción viable para sustituir a los antibióticos como promotores de mejores condiciones nutricionales en el cultivo.

Satalaya (2013) evaluó el efecto de diferentes dosis de los probióticos EM (Microorganismos Eficaces) con alevinos de *Piaractus brachypomus* en la Piscigranja Municipal "Centro Yúrac" ubicada en la región Ucayali. El diseño experimental aplicado fue un diseño completo al azar (DCA), considerando cuatro tratamientos con cuatro réplicas. Los tratamientos fueron: T0: dieta control, T1: 2 ml/kg, T2: 4 ml/kg y T3: 6 ml/kg. Los alevinos de *Piaractus brachypomus* fueron manejados en 16 jaulas de 1 m^3 con una densidad de carga de 20 peces por jaula, con peso promedio inicial de 12.36 ± 0.09 g y una longitud promedio de 8.54 ± 0.11 cm. El alimento suministrado fue del tipo extrusado con un contenido de 28 % proteína bruta (PB), incorporándole diferentes dosis del probiótico EM en un periodo experimental de 90 días. El alimento fue suministrado en dos horarios al día, por la mañana a las 07:00 h y por la tarde a las 17:00 h, a razón del 6 % de la biomasa. Los datos obtenidos fueron procesados por el programa Excel, para el análisis de varianza (ANOVA) utilizaron el programa Minitab[®] y utilizaron la prueba de tukey para analizar las diferencias significativas. El análisis de varianza de los pesos finales ($p < 0.05$) mostraron la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados indican la ganancia de peso de los tratamientos T0: 101.10 ± 3.21 g; T1: 107.34 ± 7.65 g; T2: 115.00 ± 7.99 g y T3: 135.00 ± 7.98 g. El ICAA fue 2.21 ± 0.10 , 2.04 ± 0.16 , 1.96 ± 0.05 y 1.65 ± 0.08 , respectivamente. La TCE fue de 2.46 ± 0.03 , 2.53 ± 0.08 , 2.59 ± 0.09 y 2.75 ± 0.05 , respectivamente. La sobrevivencia fue de 93.75 ± 4.79 , 92.50 ± 6.45 , 95.00 ± 5.77 y 100.00 ± 0.00 , respectivamente. Al finalizar el experimento el autor concluyó que, el probiótico EM (Microorganismos Eficaces), mejora los índices productivos y fue una alternativa viable como promotor de crecimiento en alevinos de *Piaractus brachypomus*.

Gutiérrez (2012) suministró alimento extruido de la marca Purigamitana 25 con diferentes niveles del probiótico comercial Amino Plus con el objetivo de evaluar el efecto de la inclusión del probiótico sobre el crecimiento del híbrido “pacotana” (*Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomum*), durante el estadio de la fase juvenil. El experimento fue realizado en las instalaciones de la Empresa Acuicultura Integral Doncella "Acuadoncella" E.I.R.L., ubicada en el km. 6.5 Carretera El Prado - Puerto Arturo, en Tambopata, Madre de Dios. El experimento contó con una población de 1 200 individuos con un peso promedio inicial de 70 g y una longitud promedio inicial de 10 cm, que fueron distribuidos en 12 unidades experimentales de 200 m² con una densidad de 0.5 pez/m². En el experimento, que tuvo una duración de 90 días, los peces fueron alimentados con la dieta dos veces al día 7:00 h y 17:00 h, a razón de 5 % de la biomasa al inicio del experimento. Utilizó un Diseño Completamente al Azar, con cuatro tratamientos y tres réplicas por tratamiento. Los tratamientos fueron: T1: 6 ml/kg, T2: 8 ml/kg, T3: 10 ml/kg, T4 control: 0 ml/kg de probiótico comercial Amino Plus. Evaluó el crecimiento de los peces, mediante los indicadores de crecimiento (GP, LS, ICAA, VCP, TCP y S) cada 30 días. Los datos obtenidos fueron procesados por el programa Excel, para el análisis de varianza (ANOVA) utilizaron el programa SPSS y utilizaron la prueba de tukey para analizar las diferencias significativas. Los resultados evidenciaron una mayor ganancia de peso para el tratamiento T3 (GP = 557.50 ± 84.17 g) y una longitud estándar (LS) de 30.29 ± 2.22 cm., mientras que el tratamiento T4 (Control) presentó menor ganancia de peso (GP = 445.00 ± 67.15 g.). Asimismo, el tratamiento T3 logró un índice de conversión alimenticia aparente (ICAA) de 1.05 ± 0.16, una tasa de crecimiento en peso (TCP) de 2.43 ± 0.15 %/día y una velocidad de crecimiento en peso (VCP) de 6.19 ± 0.94 g/día, demostrando tener los mejores resultados (p < 0.05). Concluyendo que el probiótico Amino Plus surgió como una alternativa viable como promotor de crecimiento de la “pacotana” en etapa juvenil, por evidenciar un alto grado de aceptación de los probióticos en la alimentación de esta especie, reflejado en el 100 % de sobrevivencia (S).

Ríos y Pérez (2012) evaluaron el efecto de la inclusión de levadura de cerveza en las dietas con 26 % de PB para juveniles de *Colossoma macropomum*, el experimento fue efectuado en las instalaciones del Programa de Investigación para el uso y conservación del agua y sus recursos (AQUAREC) – Laboratorio de Hidrobiología del Instituto de Investigación de la

Amazonía Peruana (IIAP), Loreto. Para ello, utilizaron 120 juveniles de “gamitana” para el experimento con 12.85 g de peso promedio y 10.21 cm. de longitud promedio. Los juveniles fueron distribuidos en 12 jaulas con una densidad de siembra de 10 peces/m³, aplicando cuatro tratamientos con tres réplicas cada uno. La tasa de alimentación fue de 5 % los primeros 90 días y 3 % los últimos 30 días, alimentándolos tres veces al día. Los tratamientos contenían diferentes niveles de inclusión de residuo de levadura de cerveza T2: 10 %, T3: 20 %, T4: 30 % y T1 control: 0 %. Las evaluaciones para peso y longitud fueron realizadas quincenalmente y la calidad del agua (Temperatura, Oxígeno y pH) fue monitoreada diariamente. Además, evaluaron semanalmente los parámetros químicos del agua (dureza, alcalinidad, amonio, nitrito y CO₂). Los datos obtenidos fueron procesados por el programa Excel, para el análisis de varianza (ANOVA) utilizaron el programa estadístico JMP IN Versión 4.0.4. y utilizaron la prueba de Tukey para analizar las diferencias significativas. En cuanto al peso final, longitud final, ganancia de peso, ganancia de peso diario, biomasa final, biomasa ganada, longitud total inicial, longitud total final, tasa de crecimiento relativo, tasa de crecimiento específico, índice de conversión alimenticia aparente, factor de condición, proteína bruta, grasa y ceniza, no encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos, pero si detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en biomasa inicial y longitud ganada. La investigación concluyó en que obtuvieron una sobrevivencia del 100 % de los juveniles de “gamitana”, a pesar de las condiciones de estrés a los que estuvieron sometidos durante el experimento.

Vargas (2009) evaluó diferentes dosis de probiótico (cepas de EM, microorganismos eficientes) y las densidades de cultivo, con el objetivo de determinar los mejores rendimientos productivos y las densidades de cultivo de *Colossoma macropomum*, en un área de un metro cuadrado en la etapa de crecimiento. El experimento fue realizado en las instalaciones del fundo Santa Lucia, en el distrito de Río Negro, provincia de Satipo, Junín. Para este estudio utilizó 252 alevinos de “gamitana”, con un peso promedio inicial de 4.95 ± 0.85 g y una longitud promedio inicial de 6.59 ± 0.33 cm. Para la atribución de los tratamientos a las unidades experimentales utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizado con estructura factorial 3 x 3 (3 densidades x 3 dosis de probiótico) cada uno con tres repeticiones. Para el factor A consideró 5, 9 y 14 alevines/m² y para el factor B: 0.0, 0.1 y 0.2 ml de probiótico/g de alimento racionado. Los resultados mostraron que los mejores

rendimientos productivos fueron para la densidad de 5 peces/m² en peso vivo con una ganancia de peso, incremento de peso e incremento de la longitud de 159.76 g, 1.15 g/día, 24.59 cm, respectivamente. Para la conversión alimenticia observó mejores resultados en las densidades de 9 y 5 peces/m² con una conversión alimenticia en promedio de 1.16 y 1.18, respectivamente. Además, para la densidad de 14 peces/m² obtuvo un mejor resultado de 1249.95 g para la biomasa acumulada. Los mejores resultados para peso vivo, ganancia de peso y la biomasa acumulada correspondieron para las dosis de 0.2 y 0.1 ml/g con valores promedios de 134 g y 130.64 g; 0.96 g y 0.93 g; 1 158.34 g y 1 113.61 g, respectivamente. El autor concluyó que la densidad óptima, a partir de los indicadores de rendimientos productivos en las densidades para peso vivo, ganancia de peso, incremento de la longitud, conversión alimenticia y biomasa acumulada fueron 4.5; 4.42, 4.90, 7.17 y 11.1 peces/m², respectivamente. Asimismo, la dosis óptima encontrada en los indicadores para peso vivo, conversión alimenticia y biomasa acumulada fueron 0.70, 2.73 y 1.97 ml/g, respectivamente. Finalmente, concluyó que, al incrementar la densidad del cultivo, el uso de probióticos como aditivo en la alimentación de peces amazónicos mejoran los rendimientos productivos.

1.2. Bases teóricas especializadas

1.2.1. “Paco” (*Piaractus brachipomus*)

Es una especie nativa de las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco de América del Sur. Se considera una especie acuícola importante en varios países, incluidos Colombia, Brasil, Perú, Venezuela y América Central. Tiene varias características importantes, como la naturaleza resistente, la tasa de crecimiento rápido, la calidad superior de la carne, el hábito de alimentación omnívoro que la convierten en una excelente opción para la acuicultura (Fresneda *et al.*, 2004).

1.2.2. Taxonomía

En la Tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica del “Paco”.

Tabla 1

Clasificación taxonómica del “Paco”

Elemento	Especificación
Reino	Animal
Filo	Chordata
Superclase	Actinopterygii
Orden	Characiformes
Familia	Characidae
Genero	<i>Piaractus</i>
Especie	<i>Piaractus brachypomus</i>

Fuente: Interagency Taxonomic Information System (2019).

1.2.3. Características morfológicas

Es un pez omnívoro, sin embargo, prefiere la clase insecta. Sus dientes grandes tipo molariformes ayudan a fraccionar los frutos y semillas en pequeñas partes. A simple vista se observa una coloración rojiza debajo de la línea lateral y sobre ella presenta una coloración plateada. Es de característica dócil y presenta rusticidad, se oculta entre los cardúmenes de pirañas en los estadios de alevinaje y juvenil. Su peso comercial oscila entre los 300 y 1 000 g, presenta una conversión alimenticia de 1.8 a 1, a los 5 años llega a la madurez sexual, la reproducción se realiza de manera artificial y en cada desove puede producir más de medio millón de óvulos (Ministerio de la Producción [PRODUCE], 2018).

1.2.4. Necesidades nutricionales del “paco”

Requerimiento de proteína

Las exigencias de aminoácidos se encuentran en estudio para las especies nativas como el “paco”, por lo tanto, para formular una ración para estas especies se recomienda formular

con niveles más altos de aminoácidos, que los exigidos para otras especies de clima cálido (Halver y Hardy, 2002).

Los niveles de proteína en la alimentación de la acuicultura son generalmente del 25 al 60 % de proteína cruda (PC). La mayor variación entre las especies acuáticas puede estar asociada, si los animales son de: (i) agua fría o agua cálida; (ii) de agua dulce o marina; (iii) carnívoros u omnívoros; y (iv) peces o crustáceos. Los períodos cálidos y los climas tropicales requieren menos proteínas y carbono y viceversa. Los peces carnívoros necesitan 40 – 50 % de proteínas, mientras que los peces omnívoros necesitan 25 – 35 % (Wilson y Halver, 2002).

Los requerimientos de proteínas de los peces (del 25 al 60 % de PC) disminuyen con la edad y los bajos requerimientos de energía de los peces resultan en mayor porcentaje de requerimientos de proteínas. Sin embargo, los gramos de proteína requeridos por gramo de síntesis de proteínas tisulares son bastante similares a los animales terrestres (National Research Council [NRC], 2011).

Requerimiento de lípidos

“Los lípidos en los “pacos” tienen dos funciones principales: como recurso de energía metabólica inmediata y como recurso de ácidos grasos esenciales”. A su vez estos ácidos grasos esenciales se dividen en dos, los ácidos grasos saturados y los ácidos grasos insaturados (monoinsaturados y poliinsaturados). Los requerimientos estimados de ácidos grasos esenciales para los juveniles de “paco” pueden ser cubiertos por los ácidos grasos poliinsaturados en valores próximos al 1 % del peso seco de la ración (Tueros, 2018). Se debe evitar el exceso de grasa en la ración ya que disminuye la calidad del alimento durante su almacenamiento. Generalmente en la ración, la fuente de lípidos es otorgada por el aceite de pescado, sin embargo, el “paco” por su habitat alimenticio puede adaptarse a insumos como la yuca, maíz y de diferentes fuentes vegetales observando un alto contenido graso (FONDEPES, 2004).

Requerimiento de carbohidratos

Los carbohidratos son la fuente más económica de energía en la ración alimenticia, se utiliza generalmente para favorecer en la conformación física del pellet y para preservar el lento hundimiento del pellet en la columna del agua. En un estudio realizado por Halver (1998) concluye que, los peces herbívoros y omnívoros utilizan mejor los carbohidratos, a diferencia de los peces carnívoros. Esto es debido al hábito alimenticio de los peces que va desde semillas, hojas y frutos que se encuentran compuestas mayoritariamente por carbohidratos (Halver y Hardy, 2002). Por lo tanto, se ha visto que los requerimientos de carbohidratos en la ración para “pacos” son de 360 g / kg (Vásquez-Torres *et al.*, 2011)

Vitaminas

La mayoría de las vitaminas son requeridas en pequeñas proporciones por el pez, por lo tanto, deben de ser suplementadas en la ración alimenticia. Son de gran importancia para catalizar las reacciones metabólicas de los peces y de acuerdo con la solubilidad pueden ser liposolubles (A, D, E y K) e hidrosolubles (B1, B2, B5, B6, B9, B12, C, entre otros) (Cyrino *et al.*, 2004). Dependiendo de la especie, los peces continentales requieren entre 12 y 15 vitaminas en su ración alimenticia (FONDEPES, 2004).

Minerales

Los minerales como el calcio, sodio, potasio, magnesio, fierro, entre otros son absorbidos directamente del agua por los peces e influyen en los procesos de osmorregulación (intercambio de sales) a nivel de células y en la formación de huesos, escamas y dientes, por lo que requieren ser suplementados en la dieta (FONDEPES, 2004).

1.2.5. Sistemas de cultivo de los peces amazónicos peruanos

Acuicultura extensiva

Se realiza donde las tierras son de bajo costo, para zonas alejadas de centros urbanos, por la abundancia del recurso hídrico y de los vegetales, además, por las grandes cantidades de

alimento comercial que existe en la zona. “Los cultivos se pueden desarrollar basados en la productividad primaria del estanque mediante abonamiento animal o vegetal, así como una alimentación basada en productos o subproductos de la misma finca, utilizando bajas densidades de siembra (menores a 1 pez/m²)” (González, 2001).

Acuicultura intensiva

El objetivo de este cultivo se enfoca a la producción masiva de filete de pescado para ser procesada, la productividad se mide en kilogramos de filete de pescado producidos por m³ al año. “El cultivo se realiza en altas densidades (para cachama se puede ubicar entre 6 y 15 peces/m²) y a muy altas densidades (superiores a 20 peces/m²). Se puede aplicar en lagunas, ciénagas y embalses, desarrollado en jaulas o en estanques donde se realice un alto recambio de aguas” (González, 2001).

1.2.6. Calidad del agua

El “paco” tiene preferencia por aguas cálidas con rangos de temperatura entre 25 y 30 °C, pudiendo soportar hasta 18 °C en condiciones de costa. Estas aguas deben contener oxígeno disuelto entre 4 - 7 mg/l, soportando hasta 2.5 y 3 mg/l en condiciones de stress. Un pH entre 6 - 7 y una dureza sobre 30 mg/l, los valores de amonio entre 0.2 a 0.4 mg/l y el dióxido de carbono menor a 20 mg/l (Copatti *et al.*, 2019).

1.3. El masato

El masato es una bebida típica y ancestral de las comunidades amazónicas, el proceso de fermentación es de forma espontánea con una duración entre 72 a 96 horas a temperatura ambiente (Arias *et al.*, 2009a), se usa tradicionalmente como una bebida de celebración en fiestas costumbristas de la región, cumpleaños, bodas, ceremonias y festividades religiosas (Coaricona, 2008).

La producción del masato tradicional se realiza con el proceso del masticado de la “yuca”, se cocinan las raíces de las yucas trozadas, peladas y lavadas, se deja enfriar y se realiza el

masticado de la “yuca”, consecutivamente se deja fermentar por espacio de una semana para poder ser consumido diluido en agua o no. Este proceso del masticado de la “yuca” no ha permitido la difusión del producto por razones higiénicas, actualmente se puede encontrar en distintos lugares de la Amazonía peruana, en donde los productores nativos aseguran que no realizan el proceso del masticado de la “yuca” y utilizan chancaca o azúcar para la fermentación de la “yuca” (Albornoz, 1998).

El masato fresco (12 horas después de su preparación) se consume a diario como refresco para la jornada laboral. Los nativos aseguran que, al consumir esta bebida durante el día, quita el hambre y otorga una mejor predisposición para el trabajo matutino. El masato natural (a los tres días de la preparación) se consume mayormente en recreos campestres como una bebida de refresco, pero el constante consumo alcoholiza a sus consumidores (Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas, 2018).

1.4. Las bacterias ácido lácticas

“Las bacterias lácticas (BAL) son microorganismos representadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común, generalmente son bacilos gram positivos o cocos, no móviles, no esporulados, microaerófilos o aerotolerantes y anaeróbicos”. Estos microorganismos pueden ser homofermentativas que tienen al ácido láctico como producto final de la degradación de hidratos de carbono y heterofermentativas que pueden producir ácido acético y dióxido de carbono además de ácido láctico (Carr, *et al.*, 2002; citados por Ramirez *et al.*, 2011).

Las BAL soporta un amplio rango de pH, pudiendo así crecer en pH bajos de 3.2 y altos de 9.6, pero generalmente crecen a un pH entre 4 y 4.5, esto resulta favorable para sobrevivir naturalmente en medios donde otras bacterias no resistirían la aumentada actividad producida por los ácidos orgánicos (Carr *et al.*, 2002).

Pueden ser aisladas de diversos organismos vivos, también de tierra y de alimentos, entre otras fuentes (Azadnia *et al.*, 2011). Se necesita azúcares como la glucosa y lactosa, además de aminoácidos, vitaminas y otros factores de crecimiento, para su multiplicación. Uno de los medios usados generalmente es el sustrato lácteo. Pero, existen otros medios de cultivo como las masas de cereales, las carnes y los vegetales (Vázquez *et al.*, 2009).

1.4.1. Clasificación

Se basa principalmente en la morfología, modo de fermentación de la glucosa, crecimiento a distintas temperaturas, la habilidad para crecer a alta concentración de sal y tolerancia ácida o alcalina (Gutiérrez, 2016). Carr *et al.*, (2002), refiere que “los géneros existentes en la naturaleza son: *Aerococcus*, *Alloinococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weisella*.” Los géneros de mayor uso son: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*.

1.4.2. Características fermentativas de las bacterias lácticas

“Las homofermentadoras como *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pedicococcus*, *Vagococcus* y algunos *Lactobacillus* poseen la enzima aldolasa y producen 85 % de ácido láctico como el producto principal de la fermentación de la glucosa utilizando la vía de glucólisis” (Axelsson, 1998). Por su parte, las bacterias del género *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weisella*, *Carnobacterium*, *Lactosphaera* y algunos *Lactobacillus* son heterofermentadoras y carecen de la enzima aldolasa, pero contiene la enzima fosfoacetolasa y convierten hexosas a pentosas por la vía 6-fosfogluconato fosfoacetolasa, originando en el proceso más del 50 % de ácido láctico y otros productos como el etanol, acetato y CO₂ (Carr *et al.*, 2002).

1.4.3. Mecanismos de acción de los probióticos en el microbiota intestinal de los peces

Colonización del tracto digestivo

Es la capacidad de los microorganismos para entrar al hospedero y mantenerse con vida durante mucho tiempo, existen diversos factores que facilitan su capacidad de adhesión al epitelio intestinal. Por adhesinas o por el flujo lento, de esta manera, pueden obtener una colonización rápida (Monroy *et al.*, 2012).

Competencia por nutrientes y energía

Los colonizadores dominantes que presentan el sistema de sideróforos-hierro inhiben el crecimiento de otros microorganismos, además, tienen una acción antagonista hacia gérmenes patógenos y se ocasiona gracias al ambiente acidificado que limita el crecimiento de potenciales patógenos, esto es debido a la producción de ácido láctico o acéticos producidos (Merrifield y Rodiles, 2015).

Refuerzo de la barrera gastrointestinal

Existen microorganismos probióticos que reparan los daños a la permeabilidad de la mucosa intestinal, ocasionados por patógenos (Robertson *et al.*, 2000).

Estimulación de la inmunidad

Estos microorganismos actúan sobre las células implicadas tanto en la inmunidad natural como en la inmunidad específica, activan a los macrófagos y favorecen la producción de anticuerpos (Xu *et al.*, 2016).

Probióticos como promotores de crecimiento

Los probióticos al ser administradas en proporciones adecuadas mejoran los parámetros productivos de los peces, aumentando la conversión alimenticia, reduciendo la mortalidad, mejorando la digestibilidad e incrementando el estado de salud de los peces por la estimulación del crecimiento de los microorganismos benéficos y eliminan a los microorganismos patógenos al competir y producir ácido láctico (Monroy *et al.*, 2012; Merrifield y Rodiles, 2015).

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Diseño de la investigación

La presente investigación presentó un enfoque cuantitativo utilizando un diseño experimental con un alcance exploratorio y descriptivo, con el propósito de evaluar el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente, es decir se evaluará un tema poco estudiado y se explicará los rasgos importantes de los fenómenos analizados (Hernández *et al.*, 2014).

2.1.1. Lugar y fecha

Ubicación política

El trabajo de investigación se realizó en el Invernáculo y en Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Agraria de la UCSS, ubicado en la Av. Gonzales Prada s/n. Urb. Villa Los Ángeles, distrito de Los Olivos, Lima.

Ubicación geográfica

Altitud: 70 m.s.n.m.

Latitud: 11° 59' 46.02" S

Longitud: 77° 4' 4.11" O

Duración del trabajo

El trabajo de investigación tuvo una duración de 4 meses, dándose inicio en el mes de julio del año 2018 y terminó en septiembre del año 2018.

Materiales

Material biológico

Para el trabajo de investigación se utilizaron 36 juveniles de “paco” *Piaractus brachypomus*, con un peso promedio inicial de 60.73 g y una longitud promedio inicial de 14.8 cm provenientes del centro de producción “Mauro Torres Torres” ubicado en Tingo María, departamento de Huánuco y diez muestras de masato de tres regiones de la Amazonía peruana (Satipo, Pichanaki y Perené).

Medios de cultivo y reactivos

Para facilitar el crecimiento de los microorganismos ácido lácticos se utilizó los medios de caldo MRS, agar MRS y agar citrato de Simmons, agar movilidad indol ornitina (MIO) y agar hierro triple azúcar (TSI) para las pruebas de citrato, catalasa y oxidasa. Además, de reactivos como solución verde malaquita, solución de safranina, reactivo de Kovacs, Cicloheximida, cristal violeta, lugol y acetona.

Equipos

Ictiometro modelo: KH-PISCIS-RIO marca Krausshenke[®], balanza digital y balanza electrónica modelo SF-400^a, cámara de aislamiento marca Kyntel[®], centrifuga marca Kert Lab[®] modelo 0412-1, espectrofotómetro marca Kert Lab[®] modelo Spectrumlab 54, incubadora Kert Lab[®] modelo ODHG-9070, Vortex mixer marca Kyntel[®], Autoclave marca Kyntel[®], pH metro marca Kyntel[®] modelo PH-016, Baño maría marca Kert Lab[®] modelo CDK-S22 y microscopio binocular marca Labor Tech[®] modelo 2005.

2.1.2. Descripción del experimento

Etapa de aclimatación

Inicialmente, los juveniles de *Piaractus brachypomus* estuvieron por un periodo de 30 días en las peceras cuyas dimensiones fueron de: 1m de ancho por 1m de largo por 1.2 m de alto,

adaptándose al alimento y a las condiciones fisicoquímicas del agua del lugar. Posteriormente, fueron distribuidos aleatoriamente a cada unidad experimental.

Biometría de los peces

La evaluación biométrica se realizó cada 15 días, a primeras horas de la mañana, antes de ser alimentados. Se procedió a extraer a todos los peces de cada unidad experimental para ser colocados en una balanza gramera digital, para obtener su peso. La longitud total se obtuvo colocándolo en un tallímetro para peces.

Bacterias ácido lácticas aisladas del masato

Se recolectaron diez muestras de masato de tres regiones de la Amazonía peruana (Satipo, Pichanaki y Perené), con la finalidad de aislar bacterias ácido lácticas presentes en este alimento (Figura 1). Las muestras de masato fueron codificadas y a continuación se midió el pH y se reservó 50 ml de cada una de las muestras en un tubo de Falcon™ estéril para posteriormente ser congeladas a -24 °C. El procesamiento de las muestras para el aislamiento se inició con la técnica de diluciones sucesiva propuesta por Hungate (1969), en el que se empleó como medio de dilución agua peptonada y el medio de cultivo agar MRS marca CONDA con 50 µg/ml de cicloheximida (agregado después de esterilizar el medio y al momento de plaquear), cuyo pH fue de 6.4, todos los materiales fueron esterilizados en autoclave (121 °C, 15 psi, 15 minutos). Las diluciones sucesivas se realizaron con la ayuda de una micropipeta y homogenizados con un vortex hasta la dilución 10^{-7} . Luego, solo se procedió a sembrar las diluciones desde 10^{-3} hasta 10^{-7} . El sembrado se realizó colocando un mililitro de cada dilución en la placa que contenía el medio de cultivo MRS y se sembró por extensión empleando una espátula Drigalsky, la que fue flameada bañándose en alcohol, cada vez que se sembraba en una placa diferente (De Man *et al.*, 1960).

En la Figura 1 se puede apreciar los puntos de muestreo de masato en tres distritos de la Amazonia Peruana, cada muestra con su respectiva coordenada en UTM (Universal Transverse Mercator).

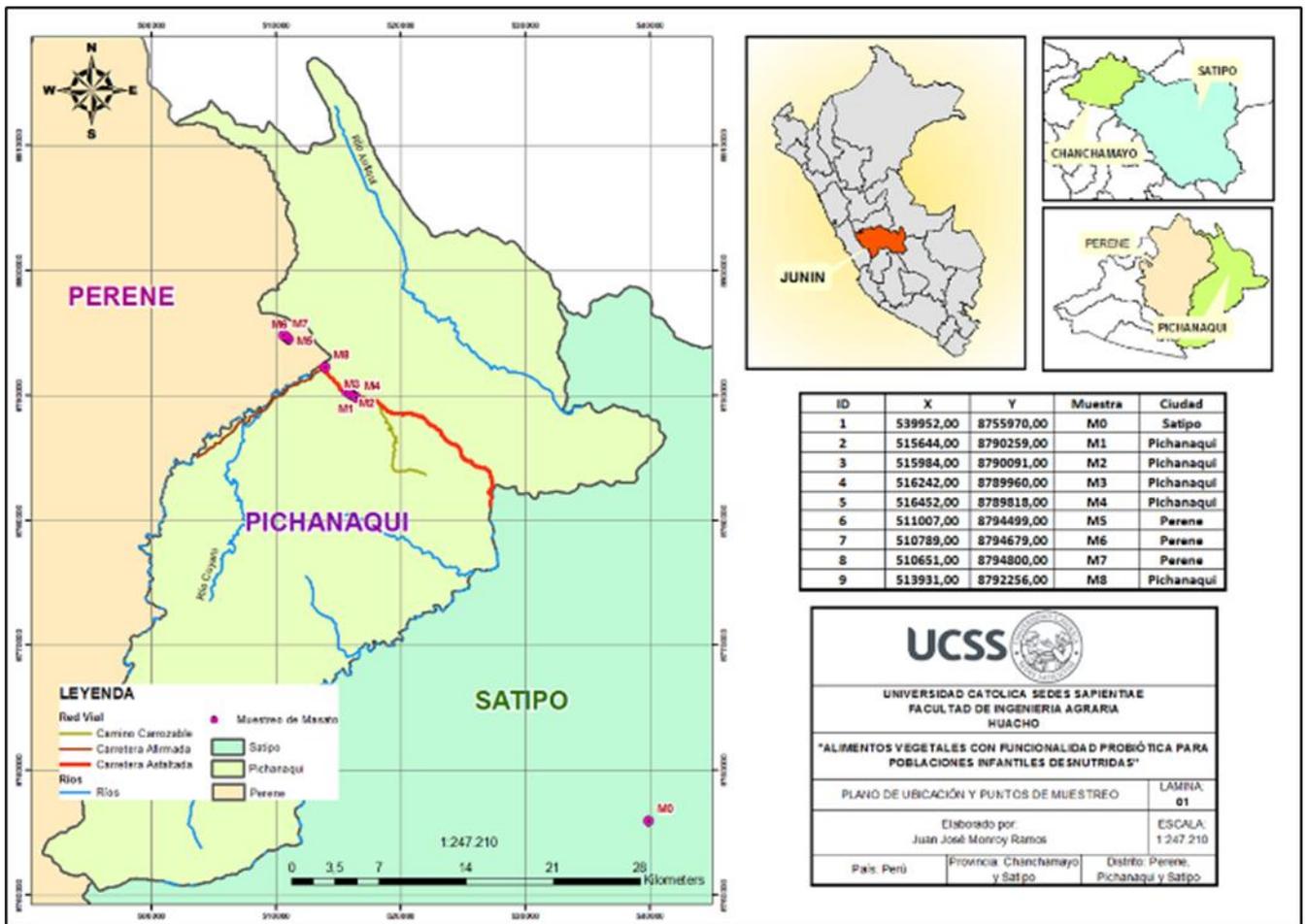


Figura 1. Plano de ubicación y puntos de muestreo de masato en los distritos de Perené, Pichanaqui y Satipo. Fuente: Elaboración propia.

Todo el proceso se realizó dentro de una cámara de bioseguridad, las placas sembradas se colocaron dentro de frascos herméticos y para generar un ambiente anaeróbico se colocó una vela hasta la extinción con la finalidad de eliminar el oxígeno presente en el frasco. A continuación, se incubó a una temperatura de 32 °C por 48 hasta 72 horas, luego las placas fueron visualizadas, para seleccionar y repicar aquellas colonias que se encontraban más aisladas y cuya morfología y color se aproxime con la descripción que hace referencia para el género *Lactobacillus*, en este caso se tomó en cuenta colonias blancas y pequeñas (excluyendo las extremadamente pequeñas). Al mismo tiempo se tomó una porción de colonia y se hizo la tinción de Gram para evidenciar células con morfología bacilar.

Los repiques de las colonias seleccionadas se cultivaron en agar MRS con 50 µg/ml de cicloheximida a un pH de 5.4, tomándose una colonia que presentó tinción Gram positiva y

morfología bacilar, además se realizó una tinción de endosporas por la técnica de Shaeffer-Fulton descrito en Doetsch (1981) en la que se empleó como colorante verde malaquita.

Asimismo, se caracterizó mediante dos pruebas bioquímicas primarias de catalasa mediante la reacción con peróxido de hidrógeno y oxidasa aplicando una tira de papel filtro embebida de reactivo de Kovacs y sobre ella se colocó una asada de la colonia sospechosa formando una línea, de la misma forma, se realizaron las pruebas de Citrato de Simons, TSI, MIO y Caldo verde brillante para el descarte de la presencia de enterobacterias tal como refiere Sedano (2006), estas colonias seleccionadas se cultivaron en caldo nutritivo para preparar el consorcio microbiano, para la preparación del caldo nutritivo se suspendió 8 gramos de medio en un litro de agua destilada, se mezcló y se disolvió por completo calentando con agitación frecuente hasta la ebullición durante un minuto, se dispuso y se esterilizó en un matraz de Erlenmeyer con capacidad de 50 ml en un autoclave a 121 ° C durante 15 minutos.

Finalmente, para inocular las colonias seleccionadas se dejó enfriar el caldo nutritivo a temperatura ambiente hasta llegar a los 35° C y se incubó con tapas flojas durante 20 horas, transcurrido el tiempo de incubación se procedió a separar los microorganismos con un proceso de centrifugación a 4 000 rpm, durante 10 minutos a temperatura ambiente y se resuspendió el pellet bacteriano en 4 ml de agua peptonada.

Probiótico comercial

El probiótico comercial utilizado en el experimento fue de la marca VIVOLAC® (2019):

DriSet BIOFLORA ABY-1, esta serie es una línea de primera calidad de cultivos concentrados liofilizados para la producción de yogurt en tanque o yogurt de taza, así como yogurt congelado y cultivos iniciadores para yogurt. Estos cultivos contienen cepas selectas de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* que desarrollan una cuenta activa alta en el producto final.

Las especificaciones se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2

Especificaciones del probiótico comercial VIVOLAC®

Cultivo	Descripción	Composición del cultivo	Parámetros de incubación
DriSet BIOFLORA ABY-1	Cepas concentradas y liofilizadas de bacterias probióticas.	<i>Streptococcus Thermophilus</i>	70 %
		<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	10 %
		<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10 %
		<i>Bifidobacterium bifidum</i>	5 %
		<i>Bifidobacterium infantis</i>	5 %
			32 – 44 °C de 4 – 6 horas

Fuente: elaboración propia adaptado de Vivolac® (2019).

Microencapsulación con alginato de BAL aisladas del masato y de microorganismos probióticos comerciales

El proceso de microencapsulación de los microorganismos se realizó según Muthukumarasamy *et al.* (2006); citados por Hinestroza-Córdova y López-Malo (2008), que refieren lo siguiente:

Para llevar la encapsulación por alginato de sodio, se prepara el cultivo microbiano, luego se lavan y separan las células mediante centrifugación. Posterior a ello, las células microbianas se suspenden en la solución que se desee (jarabes, solución salina, jugo de frutas, entre otras) para mezclar con alginato en una concentración que puede variar de 1 a 3 % (algunas veces se adiciona también citrato de sodio), luego se deja caer por goteo sobre una solución de cloruro de calcio para formar las cápsulas (Figura 2 y Apéndice 2). El tamaño de las cápsulas debe presentar un diámetro de 2 a 3 mm de diámetro.

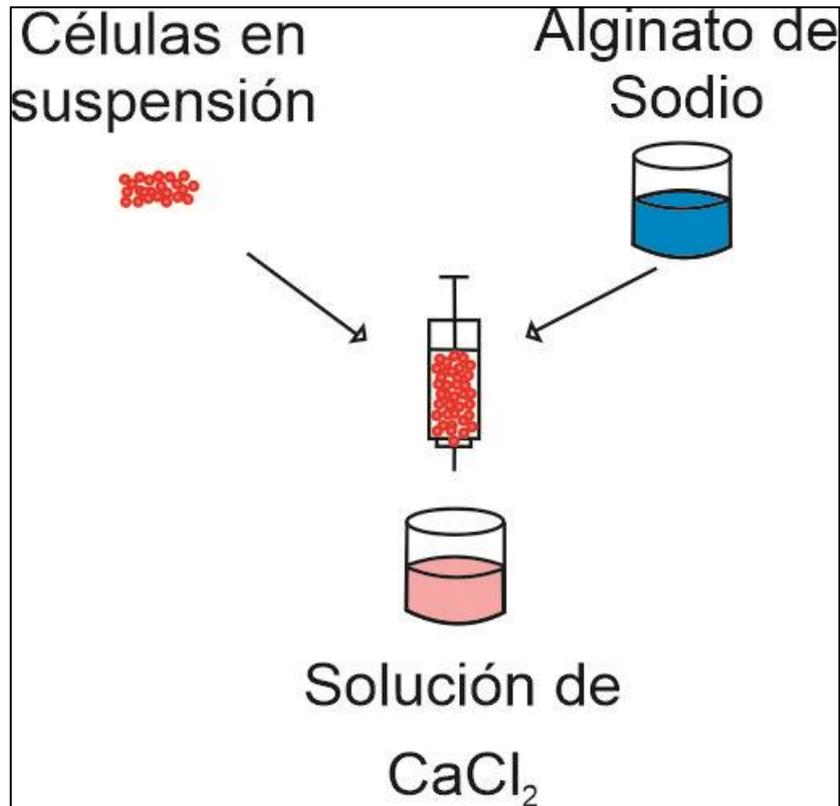


Figura 2. Proceso de encapsulación con alginato. Fuente: Elaboración propia.

Determinación de la viabilidad de las bacterias ácido lácticas aisladas del masato y de los microorganismos probióticos comerciales en las microcápsulas

La evaluación de la viabilidad microbiana en las microcápsulas fue realizada exponiendo las microcápsulas a una temperatura ambiente de 20 °C y a una temperatura de refrigeración de 5 °C, durante cinco días. La metodología para la evaluación de la viabilidad microbiana en las microcápsulas fue efectuada según la técnica de conteo de UFC/ml (De la Cruz y Terán, 2013) es decir, se realizó el aislamiento del contenido de las microcápsulas cada 24 horas, para obtener resultados positivos en cuanto a la viabilidad del consorcio de bacterias ácido lácticas aisladas del masato y el consorcio de cepas probióticas comerciales (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus*).

Al finalizar la etapa del experimento se procedió con el aislamiento y conteo de UFC/ml del tracto digestivo de uno de los “pacos” de cada tratamiento, el procedimiento efectuado fue

según Quispe (2017) eutanasiados con eugenol, a una concentración de 40 - 60 ppm, realizando un corte medular con un bisturí.

Posteriormente, se procedió a la apertura por el lado izquierdo de los “pacos”, a partir de la línea lateral y el poro anal, para descubrir la cavidad celómica del pez y ubicar el tracto intestinal con una pinza, a fin de realizar un corte del intestino delgado con el propósito de obtener un raspado de la mucosa intestinal.

2.1.3. Tratamientos experimentales

En la Tabla 3 se presentan los tratamientos experimentales.

Tabla 3

Tratamientos experimentales para las parcelas

Tratamientos	Descripción
Tratamiento 1 (Control)	Alimento concentrado microencapsulado con alginato (sin presencia de probióticos).
Tratamiento 2	Alimento concentrado microencapsulado con alginato, con un consorcio de microorganismos ácido lácticos aisladas del masato.
Tratamiento 3	Alimento concentrado microencapsulado con alginato, con un consorcio de microorganismos probióticos comerciales VIVOLAC® (<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> y <i>Streptococcus</i>).

Fuente: Elaboración propia.

2.1.4. Unidades experimentales

Cada unidad experimental (parcela) consistió en una pecera de aproximadamente 1 m³ (1 m de ancho por 1 m de largo por 1.2 m de alto) con 4 “pacos” en etapa juvenil, siendo cada

pecera asignada aleatoriamente a los tratamientos experimentales. Se consideraron 3 repeticiones por tratamiento, dando un total de 9 unidades experimentales (parcelas).

2.1.5. Dieta experimental

Para los 3 tratamientos, el concentrado fue una dieta balanceada comercial para “pacos” en etapa crecimiento, de la marca AQUATECH® con un perfil nutricional de proteína mínima de 28 %, grasa mínima de 5 %, fibra máxima de 8 %, humedad máxima de 12 %, ceniza máxima de 12 % y el tamaño del pellet de 6 mm x 6 mm. Se realizó un proceso de molienda para adicionar los consorcios bacterianos de cada tratamiento, posteriormente fueron encapsulados (Figura 2).

2.1.6. Diseño experimental

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar en parcelas divididas, donde el factor A con tres tratamientos; T1 (control), T2 y T3, y tres replicas para cada uno, se asignaron a las parcelas y el factor B con 5 periodo de colecta (0, 15, 30, 45 y 69 días), se asignaron a las subparcelas. Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a cada una de las nueve peceras (parcelas), a una densidad de siembra de 4 peces/70 l de agua.

Los especímenes fueron distribuidos aleatoriamente en cada pecera (parcelas), para ser sometidos a un proceso de adaptación y luego ser sembrados a las condiciones del medio y a las dietas experimentales por espacio de 30 días. Cada tratamiento se evaluó mediante muestreos biométricos quincenales de los individuos y los efectos de las dietas se calcularon a través del crecimiento y la composición corporal de los peces a lo largo de 60 días de cultivo.

En la Figura 3, se muestra el esquema del experimento utilizado, el cual siguió un diseño completamente al azar en parcelas divididas, con los tratamientos T1 (control), T2 y T3 asignados a las parcelas y los periodo de colecta (0, 15, 30, 45 y 69 días), asignados a las subparcelas.

T1-R2	T2-R3	T3-R2	T1-R3	T1-R1	T3-R1	T2-R1	T3-R3	T2-R2
0d								
15d								
30d								
45d								
60d								

Figura 3. Esquema del experimento según un diseño completamente al azar en parcelas divididas. Fuente: elaboración propia.

El modelo estadístico asociado al diseño completamente al azar en parcelas divididas utilizado en el experimento es:

$$y_{ijk} = \mu + T_i + U_{j(i)} + P_k + (TP)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, 3 \quad j = 1, 2, 3 \quad k = 1, 2, 3, 4, 5$$

donde:

T_i es el efecto del tratamiento (parcela)

$U_{j(i)}$ es el error de parcela

P_k es el efecto del periodo de colecta (subparcela)

$(TP)_{ik}$ es la interacción tratamiento x periodo de colecta

ε_{ijk} error de subparcela

2.1.7. Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos en los muestreos quincenales fueron ordenados y procesados en el programa Microsoft Excel® y los promedios fueron analizados a través de ANOVA a un nivel del 95 % de confianza. Cuando existió significancia se aplicó la prueba LSD de Fisher ($p \geq 0.05$) con el programa Statistica V.10 e InfoStat Versión 2017 para la edición de los gráficos.

2.2. Identificación de las variables y su mensuración

2.2.1. Ganancia de peso

Según la metodología referenciada por Betancourt (2014); Ladino y Rodríguez (2009), el peso se determinó cada 15 días de cada pez, con un total de cuatro mediciones en los 60 días que duró la fase experimental y se obtuvo un peso promedio de cada unidad experimental. Para esto, se utilizó una balanza electrónica para evaluar el peso.

- El peso promedio se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$PP = \frac{\text{peso total de la observación (g)}}{\# \text{ de peces}}$$

- La ganancia de peso por la siguiente fórmula:

$$GP = pf - pi$$

Dónde: pf = peso final y pi = peso inicial.

2.2.2. Velocidad de ganancia de peso

Se calculó según la fórmula dada en Colquehuanca (2015):

$$VCP = \frac{\text{incremento de peso del pez (g)}}{\text{tiempo (días)}}$$

2.2.3. Crecimiento en longitud

Se determinó según la metodología referenciada por Gutiérrez *et al.* (2016), las mediciones de la longitud se determinaron cada 15 días, al igual que en el peso, realizando ambas medidas el mismo día. Se utilizó un tallímetro para medir la longitud total del pez y se obtuvo una medida promedio en cada unidad experimental.

- Para obtener el promedio de medida de cada tratamiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$L = \frac{\text{medición total de la observación (mm)}}{\# \text{ de peces}}$$

- El crecimiento en longitud por la siguiente fórmula:

$$CT = lf - li.$$

Dónde: lf = longitud final y li = longitud inicial.

2.2.4. Velocidad de crecimiento en longitud

- Se calculó según la fórmula dada en Gutiérrez *et al.* (2016):

$$VCT = \frac{\text{incremento de la longitud del pez (g)}}{\text{tiempo (días)}}$$

2.2.5. Índice de conversión alimenticia aparente

Se realizó una comparación entre el alimento suministrado y la biomasa producida. Esto se realizó el mismo día que se evaluó el crecimiento. Este factor mientras más se acerque a la unidad, mejores son los índices productivos.

- Se determinó mediante la fórmula referenciada por García y Gallardo (2014):

$$ICCA = \frac{\text{alimento consumido}}{\text{ganancia de peso}}$$

2.2.6. Tasa de crecimiento específico

Según lo referenciado por Castro *et al.* (2011), expresa el crecimiento en peso del pez diariamente influenciado por el espacio, alimento y temperatura.

- Se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$TCE = \frac{(\ln pf - \ln pi)}{t} \times 100$$

Donde:

ln = logaritmo natural.

t = tiempo de experimentación.

2.2.7. Incidencia de enfermedades

Según la metodología de Verján *et al.* (2001), se observó la presencia de alguna enfermedad o alteraciones en órganos externos como las branquias, piel y aletas. Una vez determinada la enfermedad se calcula la incidencia de enfermedades.

- Para obtener el porcentaje de incidencia de enfermedades se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia de Enfermedades} = \frac{\# \text{ de peces enfermos}}{\# \text{ de peces sanos}} \times 100$$

2.2.8. Tasa de supervivencia

- Se calculó según la fórmula dada en Lara *et al.* (2002):

$$S = \frac{\# \text{ final de peces}}{\# \text{ inicial de peces}} \times 100$$

2.2.9. Factor de condición

Según la metodología referenciada por Hernández *et al.* (2009), compara el grado de bienestar o condición de un pez en relación con el medio que habita. Está basado en la premisa que el peso es proporcional a la longitud al cubo; si $K < 1$ el pez está en una pobre condición, si $K = 1$ el pez está en buena condición y si $K > 1$ el pez aparece con acumulación de grasa.

- Se determinó mediante la fórmula:

$$K = \frac{pt}{lt^3} \times 100$$

Dónde: pt = Peso total (g) y lt = Longitud total (cm).

CAPÍTULO III: RESULTADOS

3.1. Aislamiento de las bacterias ácido lácticas del masato proveniente de la Amazonía Peruana

Los resultados de las pruebas bioquímicas secundarias, donde se emplearon los medios del cultivo TSI, MIO, Citrato de Simmons y caldo verde brillante, dieron como resultado que las bacterias no pertenecen al grupo de enterobacterias, pero cabe indicar que son fermentadoras de lactosa bajo condiciones anaerobias, patrón que corresponde al género *Lactobacillus*.

En la Tabla 4 se muestran los pHs de las muestras de masato, cabe resaltar que el fermento es ácido y menor a 5.

Tabla 4

Reporte de pH de las muestras de masato

Muestra codificada	pH
M0	4.15
M1	3.80
M2	4.05
M3	4.06
M4	3.95
M5 C/A	4.68
M6	4.11
M7	3.99
M8 C/A	4.27
M8 S/A	4.27

Fuente: Elaboración propia.

En el Apéndice 1 muestra las características de las colonias a nivel macroscópico y mediante tinción de Gram, además, se puede observar los resultados de las pruebas bioquímicas primarias.

3.2. Viabilidad del consorcio de bacteriano en la microcápsula

En la Figura 4, se muestran los valores de la viabilidad de los consorcios bacterianos en las microcápsulas obtenidos diariamente durante 5 días. El consorcio bacteriano proveniente de los probióticos comerciales alcanza su máxima proliferación al segundo día (4.55×10^6 UFC/ml) y disminuye progresivamente en los siguientes días, el consorcio bacteriano proveniente del masato, de igual manera alcanza su máxima proliferación al segundo día (1.30×10^6 UFC/ml) en menor cantidad a diferencia de los microorganismos probióticos comerciales. Al término del periodo de evaluación, ambos consorcios provenientes de los probióticos comerciales y del masato disminuyeron su viabilidad hasta 0.15×10^6 UFC/ml y 0.1×10^6 UFC/ml, respectivamente. Estos resultados garantizaron la viabilidad de las bacterias ácido lácticas provenientes de los probióticos comerciales y del masato, en sus respectivos tratamientos por un periodo de cinco días.

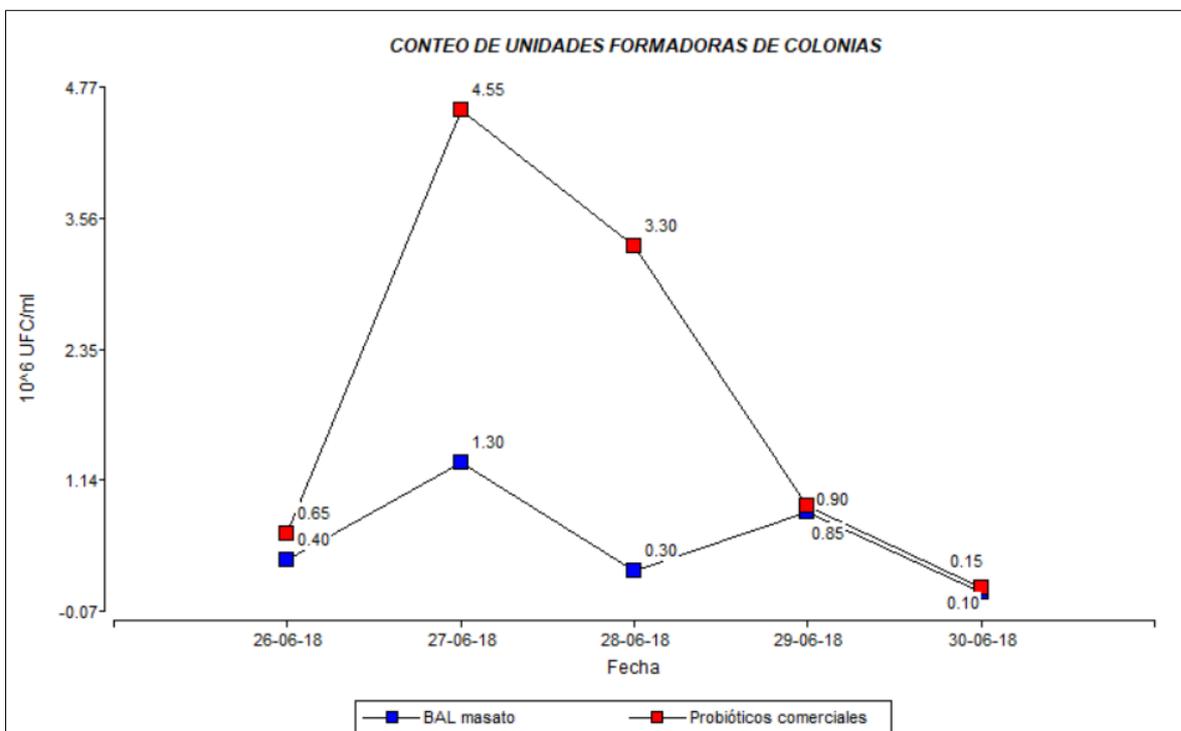


Figura 4. Evaluación de la viabilidad de los consorcios bacterianos en las microcápsulas (diaria). Fuente: Elaboración propia.

3.3. Parámetros zootécnicos de crecimiento

3.3.1. Análisis de los pesos de los peces

En la Tabla 5, se muestran los resultados del análisis de varianza de los pesos, se observa que hubo efecto significativo de los tratamientos experimentales ($p \leq 0.05$), demostrando que los pesos promedio obtenidos en los tres tratamientos, tuvieron diferencias estadísticas. Se evidencia, además, efecto significativo de la periodo de colecta ($p \leq 0.05$), revelando que los peces fueron ganando peso durante los 60 días del experimento. No se evidenciaron efectos de interacción ($p > 0.05$) entre tratamiento y periodo de colecta, indicando que la ganancia de peso de los peces tuvo la misma tendencia durante los periodos observados, independientemente del tratamiento recibido en su alimentación (Tabla 5).

Tabla 5

Análisis de varianza de los pesos, considerando los tratamientos y periodo de colecta de los peces en las subparcelas

FV	SC	gl	CM	F	p
Tratamiento	650.1	2	325.1	44.59	0.000000
Tratamiento (replica)	1455.3	6	242.6	33.27	0.000000
Periodo de colecta	8437.6	4	2109.4	289.35	0.000000
Tratamiento*Periodo de colecta	89.6	8	11.2	1.54	0.1969
Error	175.0	24	7.3		

Fuente: Elaboración propia adaptado del programa Statistica V.10

En la Tabla 6 se reportan los valores de peso (g) promedio y las desviaciones estándar según el tratamiento y periodo de colecta durante los 60 días de la fase experimental. Se observa que, en cada periodo de colecta, no hubo diferencias estadísticas en los pesos promedios de los tres tratamientos ($p > 0.05$). Sin embargo, se evidencian para cada tratamiento diferencias estadísticas en los pesos promedio durante los periodos de colecta.

Se puede observar en la Tabla 6 que, al inicio del experimento, los peces alimentados con el T1 tuvieron peso promedio de 62.98 g mientras que los peces alimentados con el T2 y T3, presentaron pesos promedios de 61.14 g y 58.06 g, respectivamente. Asimismo, los pesos promedio finales, a los 60 días del experimento, fueron: 102.85 g para T1, 98.29 g para T2 y 92.66 g para T3.

En la Tabla 6, los resultados de las pruebas LSD de Fisher muestran que los tratamientos T1 y T2 tuvieron tendencias similares en las ganancias de peso durante el experimento, presentando diferencias significativas en los pesos promedios a los 30 días en comparación con los pesos promedio a los 15 días, mientras que en el tratamiento T3, el peso promedio a los 30 días (73.26 g) no difirió significativamente del peso promedio alcanzado a los 15 días (65.06 g). Estos resultados muestran que la ganancia de peso de los peces que recibieron el tratamiento T3 fue menor que las ganancias de pesos de los peces que recibieron los tratamientos T1 y T2, los cuales se ven reflejados en los pesos promedios finales obtenidos: 102.85 ± 7 g para el tratamiento T1, 98.29 ± 6.4 g para el tratamiento T2 y 92.66 ± 10.4 g para el tratamiento T3.

Tabla 6

Medias y desviaciones estándar de los pesos de los peces (g) según tratamientos y periodos de colecta en las subparcelas

Periodo de colecta	Tratamientos		
	T1 (control)	T2	T3
0 (días)	62.98 ± 5.8^{aA}	61.14 ± 3.7^{aA}	58.06 ± 4.6^{aA}
15 (días)	71.35 ± 8.3^{aA}	69.06 ± 3.2^{aA}	65.06 ± 6.1^{aA}
30 (días)	87.37 ± 6.1^{aB}	82.54 ± 7.8^{aB}	73.6 ± 11.1^{aAB}
45 (días)	94.64 ± 5.1^{aBC}	92.61 ± 6.6^{aBC}	84.39 ± 11.8^{aB}
60 (días)	102.85 ± 7.0^{aC}	98.29 ± 6.4^{aC}	92.66 ± 10.4^{aC}

T1: Control, T2: Consorcio de microorganismos ácido lácticos de masato, T3: Consorcio de microorganismos probióticos comerciales.

Para cada periodo de colecta, los promedios seguidos por letras minúsculas iguales no difieren significativamente ($p \geq 0.05$) según la prueba LSD de Fisher.

Para cada tratamiento, los promedios seguidos por letras mayúsculas iguales no difieren significativamente ($p \geq 0.05$) y los promedios seguidos por letras mayúsculas diferentes, difieren significativamente ($p \leq 0.05$) según la prueba LSD de Fisher.

Fuente: elaboración propia adaptado del programa Statistica V.10

En la Figura 5, se muestra la curva de ganancia de los pesos de los peces desde el periodo de siembra (0 días) hasta el final del experimento (60 días), se observa una tendencia similar en el incremento de peso en los 3 tratamientos. Se observa, además, en todos los periodos, un menor incremento de los pesos en el tratamiento T3, en comparación a los tratamientos T1 y T2, indicando que los peces alimentados con los tratamientos T1 y T2 tuvieron un mejor desarrollo, reflejado en una mayor ganancia de peso en todo el periodo experimental.

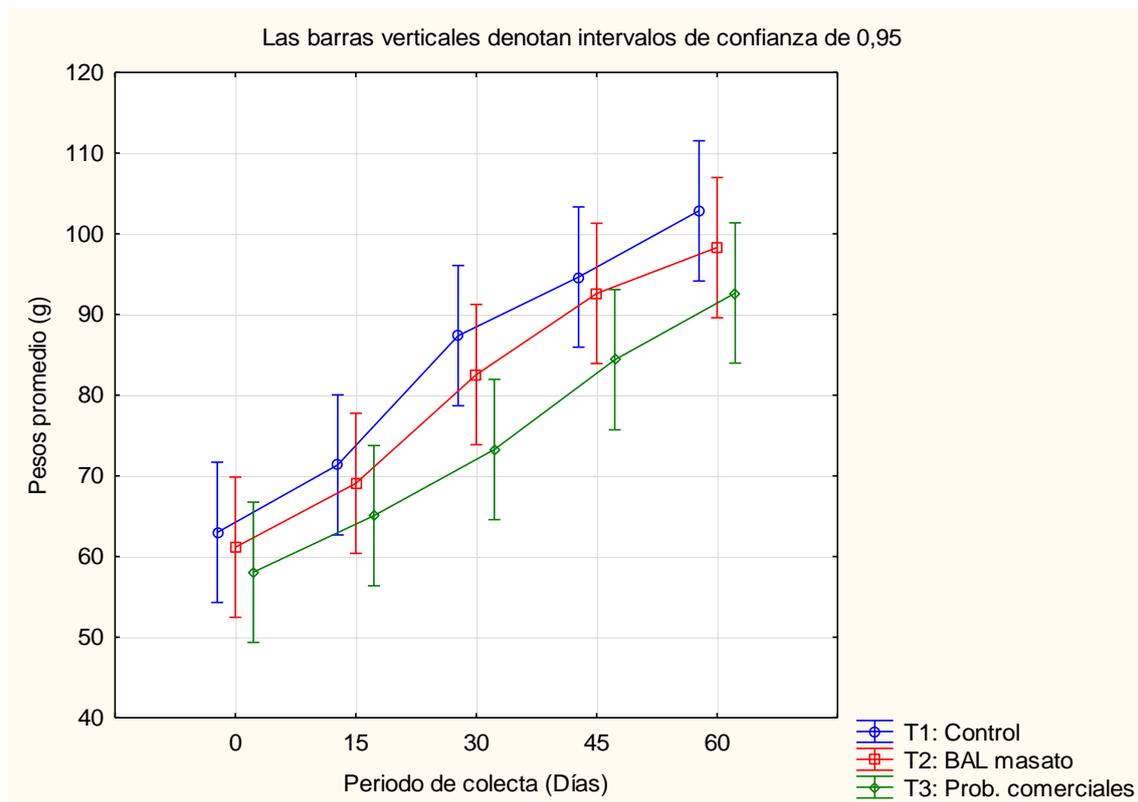


Figura 5. Pesos promedio (g) de los peces según el tratamiento recibido y el periodo de colecta, mostrando la tendencia en ganancia de peso durante el periodo experimental.

Fuente: elaboración propia adaptado del programa Statistica V.10

3.3.2. Análisis de las longitudes de los peces

En la Tabla 7 se muestran los resultados del análisis de varianza de las longitudes, observando que hubo efecto significativo de los tratamientos experimentales ($p \leq 0.05$), indicando que las longitudes promedio obtenidas en los tres tratamientos, tuvieron diferencias estadísticas significativas. Se evidencia, además, efecto significativo de la periodo de colecta ($p \leq 0.05$), lo que demuestra, que los peces fueron ganando longitud durante los 60 días del experimento. No se evidenciaron efectos de interacción ($p > 0.05$)

entre tratamiento y periodo de colecta, implicando que el crecimiento en longitud de los peces tuvo la misma tendencia durante los periodos observados, independientemente del tratamiento recibido en su alimentación (Tabla 7).

Tabla 7

Análisis de varianza de las longitudes, considerando los tratamientos y periodos de colecta de los peces en las subparcelas

FV	SC	gl	CM	F	p
Tratamiento	3.19	2	1.60	66.8	0.00000
Tratamiento (replica)	6.05	6	1.01	42.2	0.00000
Periodo de colecta	4.12	4	1.03	43.1	0.00000
Tratamiento*Periodo de colecta	0.10	8	0.01	0.5	0.8415
Error	0.57	24	0.02		

Fuente: Elaboración propia adaptado del programa Statistica V.10

En la Tabla 8 se reportan los valores promedio de las longitudes (cm) y las desviaciones estándar según el tratamiento y periodo de colecta durante los 60 días de la fase experimental. Se observa que, en cada periodo de colecta, hubo diferencias estadísticas en el promedio de las longitudes de los tres tratamientos ($p > 0.05$). Asimismo, para cada tratamiento, se evidencian diferencias estadísticas en las longitudes promedio durante los periodos de cultivo ($p > 0.05$), lo que indica que el crecimiento de los peces fue mínimo, independientemente del tratamiento recibido.

Se puede observar en la Tabla 8 que, al inicio del experimento, los peces alimentados con el T1 tuvieron una longitud promedio de 15.09 cm mientras que los peces alimentados con el T2 y T3, presentaron longitudes promedias de 14.77 cm y 14.54 cm, respectivamente. Asimismo, las longitudes promedio finales, a los 60 días del experimento, fueron: 16.01 cm para T1, 15.62 cm para T2 y 15.31 cm para T3.

En la Tabla 8, los resultados de las pruebas LSD de Fisher muestran que los tratamientos T1, T2 y T3 tuvieron tendencias similares en el crecimiento de longitud durante el experimento,

Estos resultados muestran que el crecimiento de la longitud de los peces en los tres tratamientos fueron mínimos, los cuales se ven reflejados en las longitudes promedio alcanzadas a los 60 días de cultivo: 16.01 ± 0.38 cm para el tratamiento T1, 15.62 ± 0.54 cm para el tratamiento T2 y 15.31 ± 0.45 cm para el tratamiento T3.

Tabla 8

Medias y desviaciones estándar de las longitudes (cm) según tratamientos y periodos de colecta en las subparcelas

Periodo de colecta	Tratamientos		
	T1 (control)	T2	T3
0 (días)	15.09 ± 0.62^{aA}	14.77 ± 0.26^{aA}	14.54 ± 0.39^{aA}
15 (días)	15.38 ± 0.78^{aA}	15.13 ± 0.42^{aA}	14.79 ± 0.29^{aA}
30 (días)	15.74 ± 0.45^{aA}	15.20 ± 0.41^{aA}	15.06 ± 0.45^{aA}
45 (días)	15.91 ± 0.42^{aA}	15.48 ± 0.52^{aA}	15.18 ± 0.43^{aA}
60 (días)	16.01 ± 0.38^{aA}	15.62 ± 0.54^{aA}	15.31 ± 0.45^{aA}

T1: Control, T2: Consorcio de microorganismos ácido lácticos de masato, T3: Consorcio de microorganismos probióticos comerciales.

Para cada periodo de colecta, los promedios seguidos por letras minúsculas iguales no difieren significativamente ($p \geq 0.05$) según la prueba LSD de Fisher.

Para cada tratamiento, los promedios seguidos por letras mayúsculas iguales no difieren significativamente ($p \geq 0.05$) y los promedios seguidos por letras mayúsculas diferentes, difieren significativamente ($p \leq 0.05$) según la prueba LSD de Fisher.

Fuente: Elaboración propia adaptado del programa Statistica V.10

La Figura 6, muestra la curva de crecimiento de las longitudes de los peces desde el periodo de siembra (0 días) hasta el final del experimento (60 días), se observa una tendencia similar en el aumento de la longitud en los tres tratamientos. Además, en todos los periodos, se aprecia un menor incremento de las longitudes en el tratamiento T3 en comparación con los tratamientos T1 y T2, sin embargo, estos menores incrementos no llegaron a ser estadísticamente significativos ($p > 0.05$).

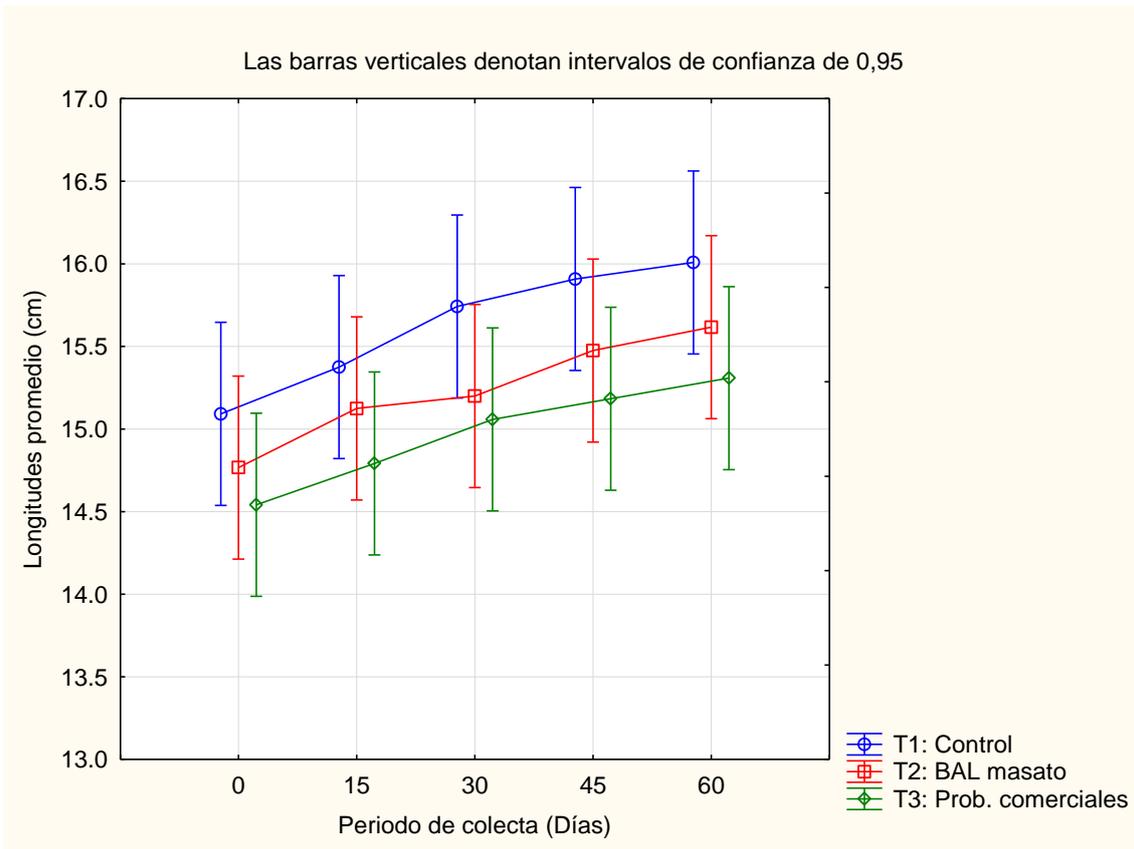


Figura 6. Longitudes promedio (cm) de los peces según el tratamiento recibido y el periodo de colecta, mostrando la tendencia en crecimiento de longitud durante el periodo experimental. *Fuente:* Elaboración propia adaptado del programa Statistica V.10

3.3.3. Índices zootécnicos

En la Tabla 9 se muestran los índices zootécnicos promedios evaluados durante los 60 días de cultivo de la ganancia de peso, velocidad de ganancia de peso, crecimiento en longitud, velocidad de crecimiento en longitud, índice de conversión alimenticia aparente, tasa de crecimiento específico y factor de condición.

El tratamiento T1 presentó un desempeño ligeramente mejor en los índices zootécnicos promedios de ganancia de peso, velocidad de ganancia de peso, crecimiento en longitud, velocidad de crecimiento en longitud, tasa de crecimiento específico y factor de condición, evaluados durante los 60 días de cultivo (Tabla 9).

Los peces del tratamiento T3, con inclusión de microorganismos probióticos comerciales tuvieron un mejor desempeño en el índice de conversión alimenticia aparente, obteniendo al final un promedio de 3.69 ± 1.221 , seguido del tratamiento T1 con un índice de conversión alimenticia aparente de 3.98 ± 2.179 , finalmente el tratamiento T2 con un índice de conversión alimenticia aparente de 4.80 ± 3.974 . De acuerdo con los resultados del índice de conversión alimenticia aparente, la secuencia de los tratamientos es: $T3 > T1 > T2$.

Tabla 9

*Índices zootécnicos (Promedio \pm Desviación Estándar) de *Piaractus brachyomus*, alimentados con 3 dietas durante 60 días de estudio*

Índices Zootécnicos	Tratamientos		
	T1	T2	T3
Ganancia de peso (g)	39.9 ± 1.336	37.1 ± 3.718	34.6 ± 6.194
Velocidad de ganancia de peso (g/día)	0.66	0.62	0.58
Crecimiento en longitud (cm)	0.92 ± 0.247	0.85 ± 0.288	0.77 ± 0.392
Velocidad de crecimiento en longitud (cm/día)	0.015	0.014	0.013
Índice de conversión alimenticia aparente (ICAA)	3.98 ± 2.179	4.80 ± 3.974	3.69 ± 1.221
Tasa de crecimiento específico (SGR)	2.67	2.62	2.57
Factor de condición (K)	2.10 ± 0.240	2.19 ± 0.285	2.11 ± 0.224

Fuente: Elaboración propia.

Ganancia de peso

Se observa en la Figura 7, que los peces que obtuvieron mayor ganancia de peso en las dos primeras quincenas fueron las que recibieron el tratamiento T1, con una ganancia de peso promedio de 8.37 y 16.02 g. Sin embargo, en las últimas dos semanas los peces que obtuvieron mayor ganancia de peso correspondieron al tratamiento T3, con una ganancia de peso promedio de 11.13 y 8.28 g.

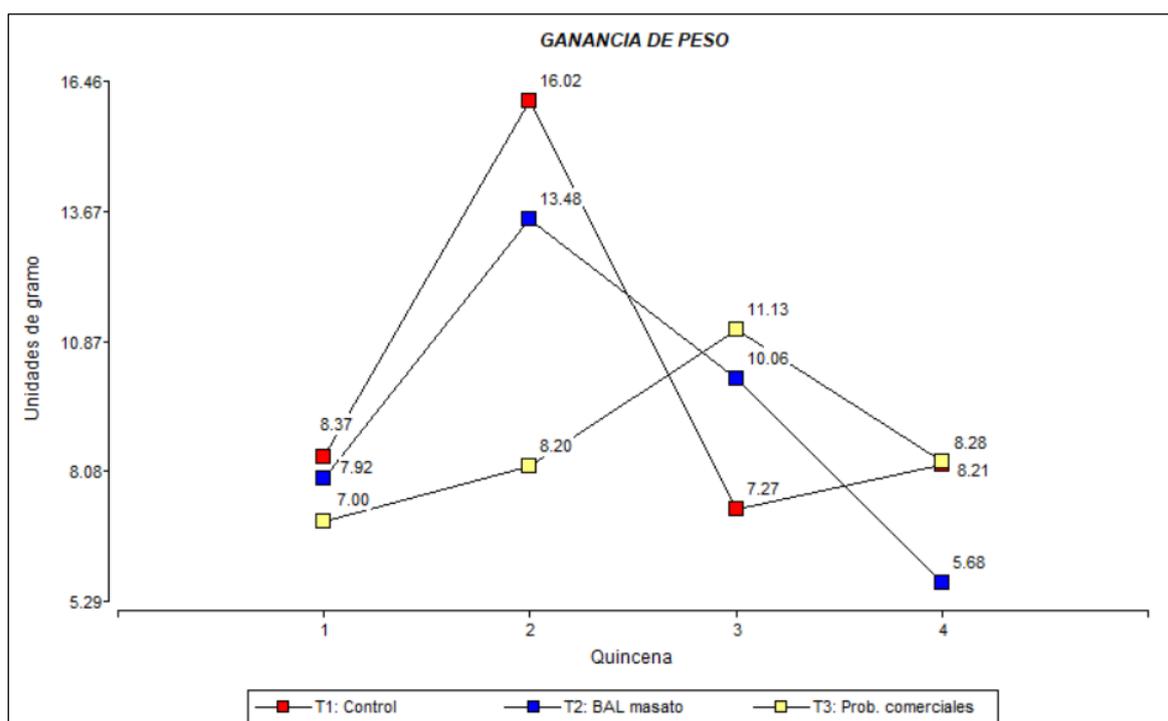


Figura 7. Ganancia de peso de los peces experimentales. Fuente: Elaboración propia.

Velocidad de ganancia de peso

Los peces que obtuvieron mayor velocidad de ganancia de peso en las dos primeras quincenas fueron los que recibieron el tratamiento T1, con una ganancia de peso (gramos) por día de 0.56 y 1.07 g/día, respectivamente. En las últimas dos semanas los peces que obtuvieron mayor velocidad de ganancia de peso fueron los que recibieron el tratamiento T3, con una ganancia de peso (gramos) por día de 0.74 y 0.55 g/día, respectivamente (Figura 8).

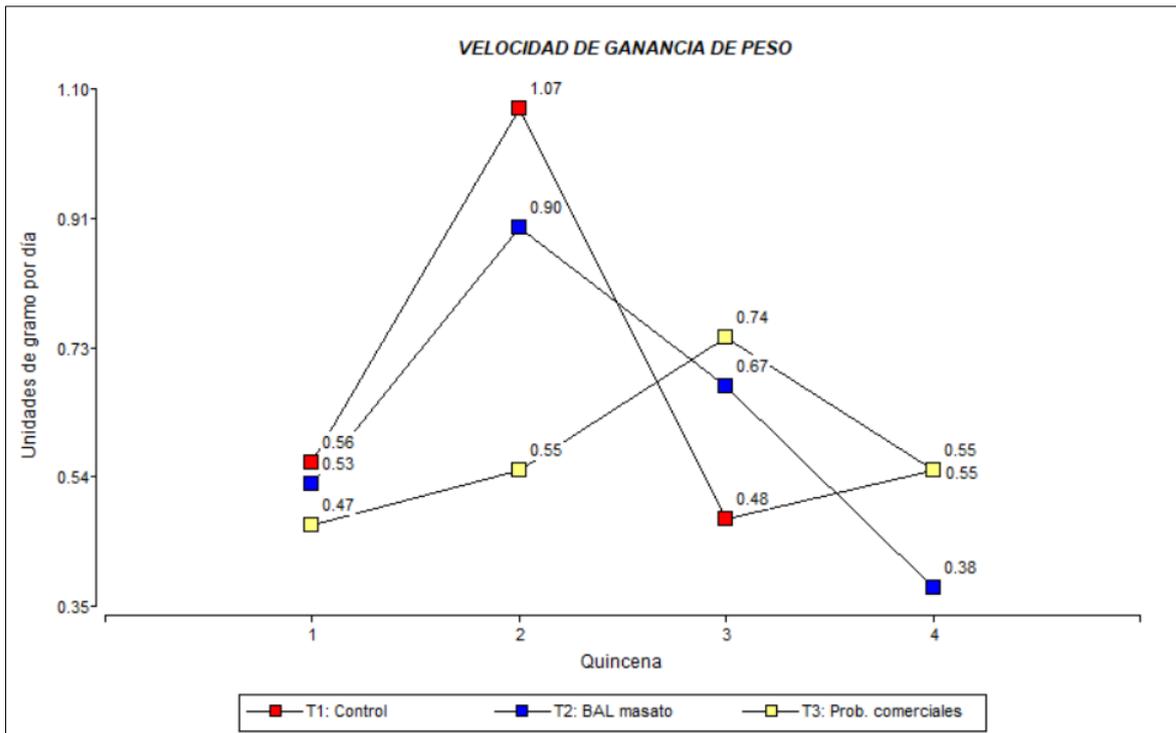


Figura 8. Velocidad de ganancia de peso de los peces según los tratamientos experimentales. Fuente: Elaboración propia.

Crecimiento en longitud

En la Figura 9 se observa que los peces que obtuvieron mayor crecimiento en longitud en la primera quincena correspondieron al tratamiento T2, con un crecimiento en longitud promedio de 0.358 cm. Sin embargo, en la cuarta quincena se observó una longitud promedio similar en los tres tratamientos, alcanzando un crecimiento promedio de 0.10 cm para el tratamiento T1, 0.14 cm para el tratamiento T2 y 0.13 cm para el tratamiento T3.

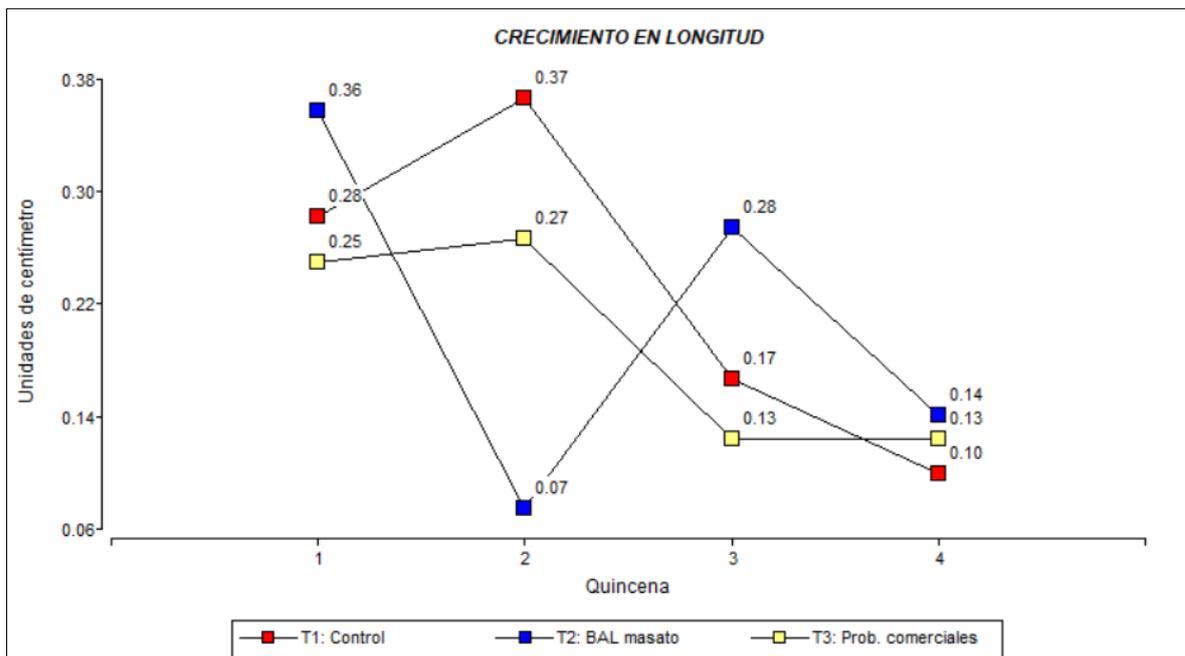


Figura 9. Crecimiento en longitud de los peces según los tratamientos experimentales. Fuente: Elaboración propia.

Velocidad de crecimiento en longitud

Los peces que obtuvieron mayor velocidad de crecimiento en longitud en la primera quincena fueron los que recibieron el tratamiento T2, con una velocidad de crecimiento en longitud promedio de 0.024 cm/día. También, en las dos últimas quincenas se registró mayor velocidad de crecimiento en longitud en el tratamiento T2, con 0.018 y 0.009 cm/día en la tercera y cuarta quincena, respectivamente (Figura 10).

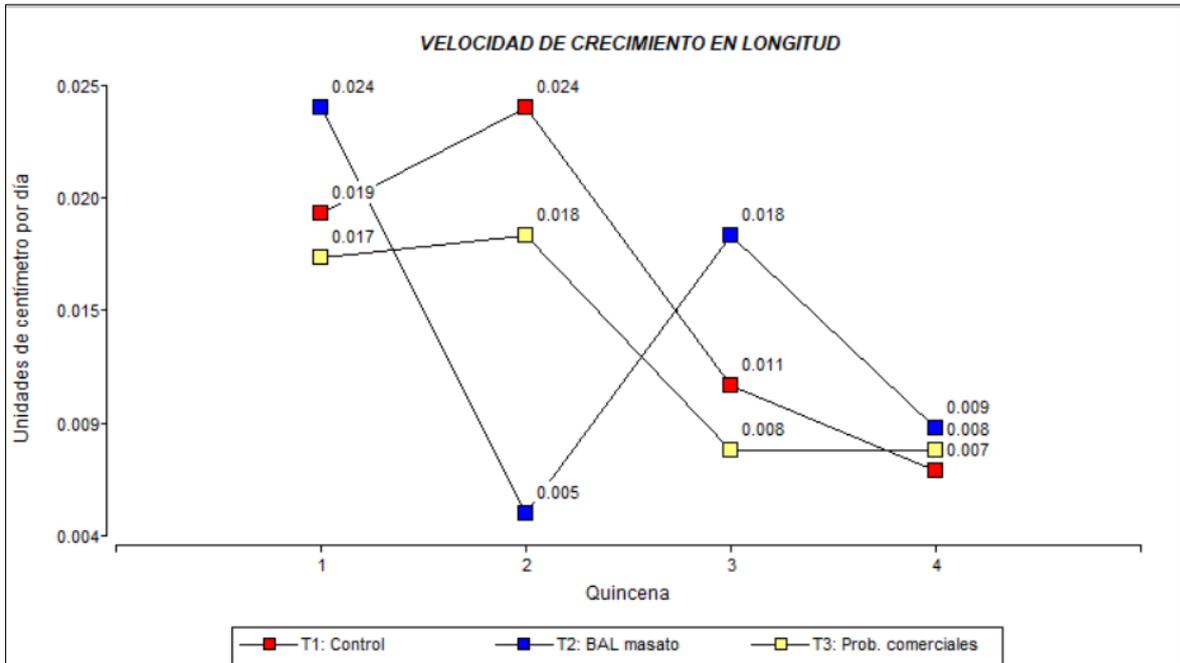


Figura 10. Velocidad de crecimiento en longitud de los peces según los tratamientos experimentales. Fuente: Elaboración propia.

Índice de conversión alimenticia aparente

En la Figura 11 se puede apreciar que los peces que presentaron un mejor índice de conversión alimenticia aparente al final del proceso experimental correspondieron al tratamiento T3, con un índice de conversión alimenticia aparente de 5.21; seguido del tratamiento T1, con un índice de conversión alimenticia aparente de 5.77, mientras que en el tratamiento T2, se registró un índice de conversión alimenticia aparente de 10.59.

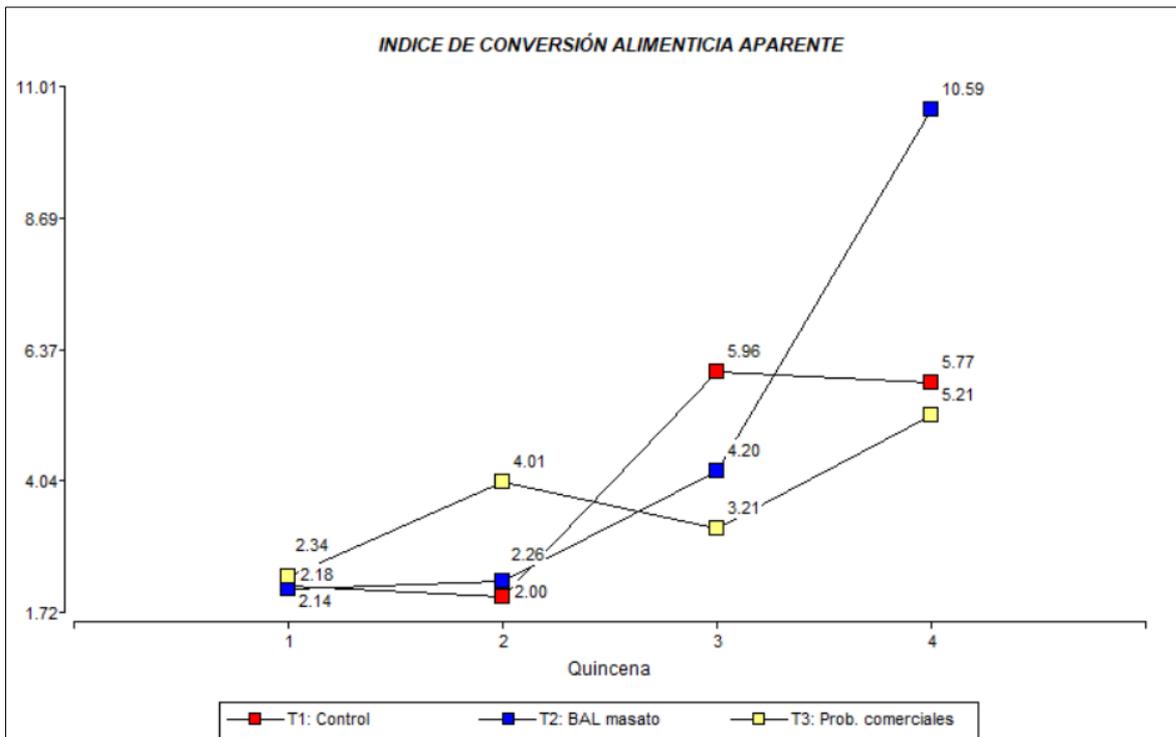


Figura 11. Índice de conversión alimenticia aparente de los peces según los tratamientos experimentales. Fuente: Elaboración propia.

Tasa de crecimiento específico

En la Tabla 10, el tratamiento con mejor tasa de crecimiento específico en todo el periodo experimental fue el tratamiento T1, el mismo que alcanzó un valor de 2.67 %/día durante el experimento, seguido del tratamiento T2 que registró un valor de 2.62 %/día y el tratamiento T3 que registró con un valor de 2.57 %/día.

Tabla 10

Tasa de crecimiento específico

Unidad	T1	T2	T3
%/día	2.67	2.62	2.57

Fuente: Elaboración propia.

Factor de condición

En la Figura 12, se observa que, durante el periodo experimental el factor de condición tuvo un comportamiento ascendente para todos los tratamientos, registrando en la primera quincena un factor de condición de 1.83, 1.89 y 1.90 para los tratamientos T1, T3 y T2, respectivamente. En la segunda quincena el factor de condición aumentó hasta llegar a 1.96, 2.00 y 2.01, para los tratamientos T1, T2 y T3; posteriormente el tratamiento T2 se elevó hasta llegar a 2.35 en la tercera quincena, seguido de los tratamientos T1 con 2.24 y T2 con 2.15. Finalmente, en la última quincena los peces obtuvieron un factor de condición de 2.35 para el tratamiento T1, de 2.50 para el tratamiento T2 y de 2.41 para T3.

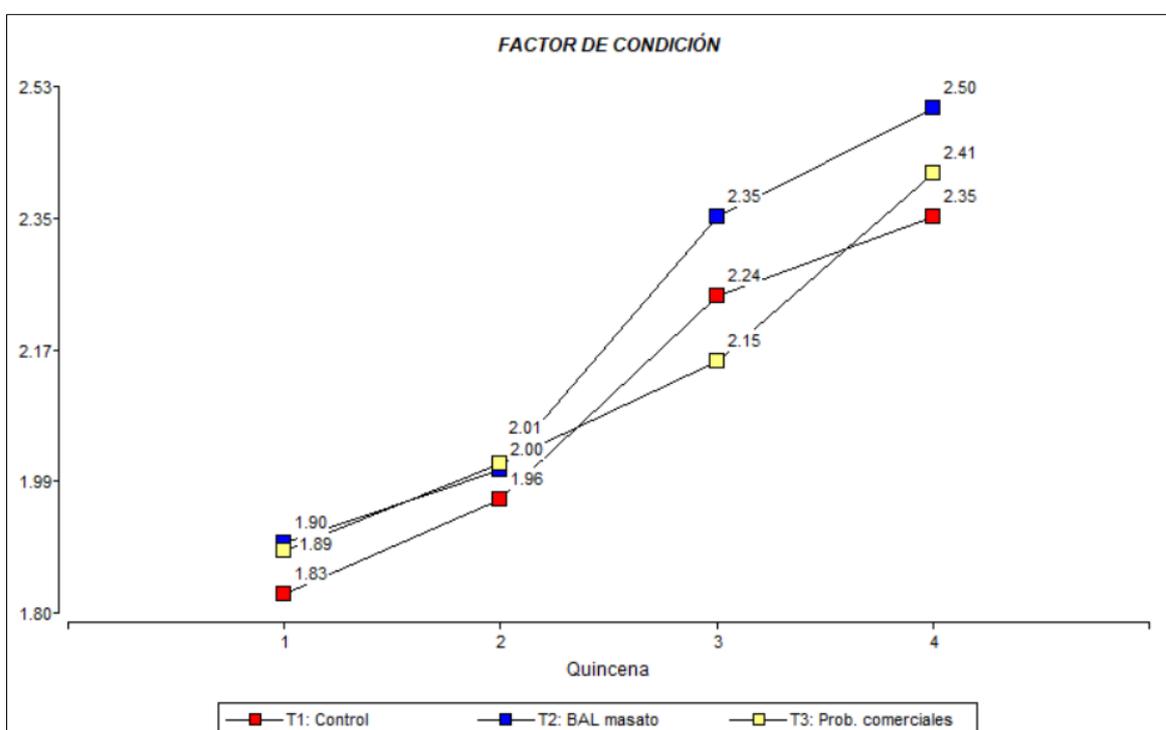


Figura 12. Factor de condición de los peces experimentales (quincenal).

Fuente: Elaboración propia.

Sobrevivencia

La supervivencia fue del 100 % para todos los tratamientos.

Incidencia de enfermedades

En la Tabla 11 se muestra la ausencia de enfermedades o alteraciones en los tres tratamientos.

Tabla 11

Presencia de enfermedades o alteraciones

Unidad	Presencia de enfermedades o alteraciones		
	T1	T2	T3
Branquias	(-)	(-)	(-)
Piel	(-)	(-)	(-)
Aletas	(-)	(-)	(-)

Fuente: Elaboración propia.

3.3.4. Parámetros físico-químicos del agua

En las Figuras 13, 14, 15, 16, 17, 18 y 19 se presenta los valores promedios y sus respectivas desviaciones estándar de los principales parámetros físicos y químicos del agua de las unidades experimentales, registrado durante los 60 días de cultivos. Además, se puede apreciar que estos valores no variaron significativamente. Los valores de la calidad de agua a lo largo del experimento se mantuvieron dentro del rango adecuado para el cultivo de peces amazónicos, presentando algunas variaciones que no afectaron el crecimiento de los ejemplares de juveniles de “paco”.

Parámetros físicos del agua

a. Temperatura

En la Figura 13 se muestran los valores de Temperatura obtenidos semanalmente en las unidades experimentales (peceras) durante la fase experimental. Se puede observar que los valores de la temperatura del agua fluctuaron entre 25.1 °C como valor mínimo y 31.2 °C como valor máximo.

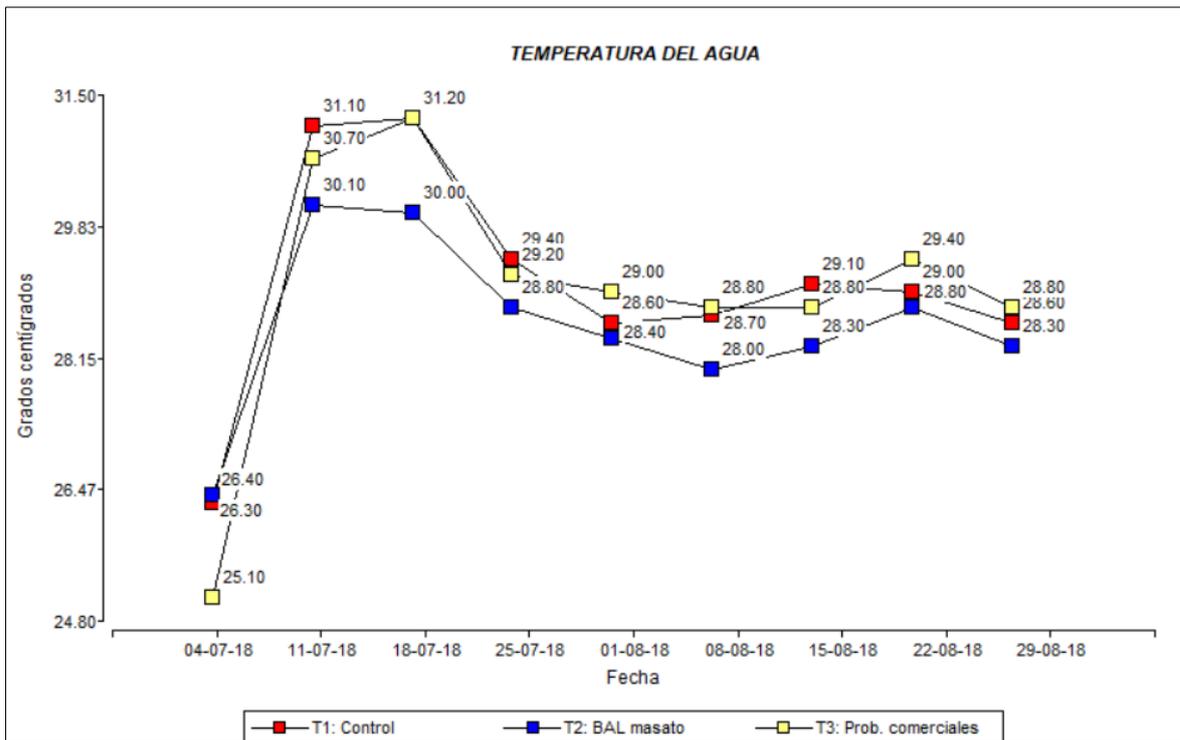


Figura 13. Variación de la temperatura del agua en los tratamientos experimentales (semanal). Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 14 se muestran los valores de Temperatura Ambiental obtenidos semanalmente en el invernáculo donde se encontraban instaladas las unidades experimentales (peceras) durante la fase experimental. Se puede observar que los valores de la temperatura ambiental fluctuaron entre 18.8 °C en la primera semana ascendiendo hasta 24 y 27 °C, en la segunda y tercera semana, respectivamente. Posteriormente, durante la cuarta semana descendió hasta 20.20 °C, fluctuando hasta llegar a 19.4 °C en la última semana.

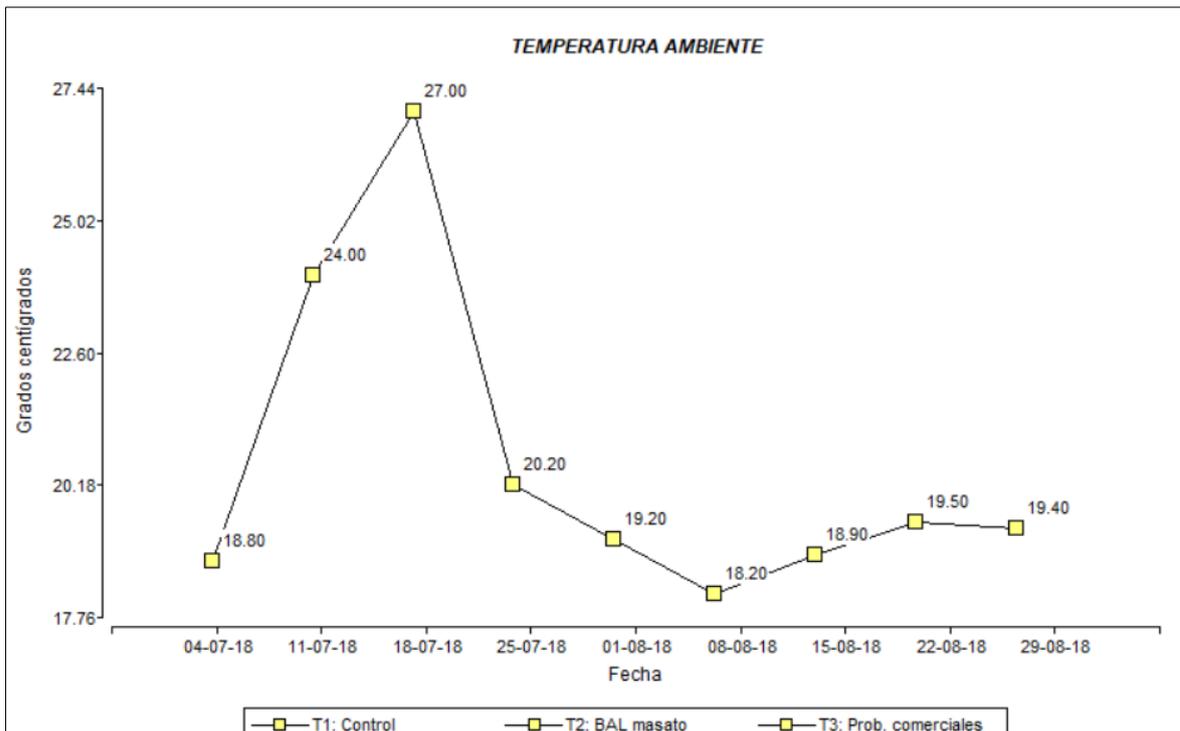


Figura 14. Variación semanal de la temperatura ambiental durante el experimento.
Fuente: Elaboración propia.

Parámetros químicos del agua

a. Oxígeno disuelto

En la Figura 15 se muestran los valores de oxígeno disuelto obtenidos semanalmente en las unidades experimentales durante la fase experimental. Asimismo, los valores de oxígeno disuelto del agua en las peceras fluctuaron, en promedio, entre 7.6 ± 5.361 mg/l para el T1, 8.7 ± 5.984 mg/l para el T2 y 8.5 ± 6.486 mg/l para el T3, permaneciendo dentro de los rangos normales para el desarrollo de los juveniles de “paco”.

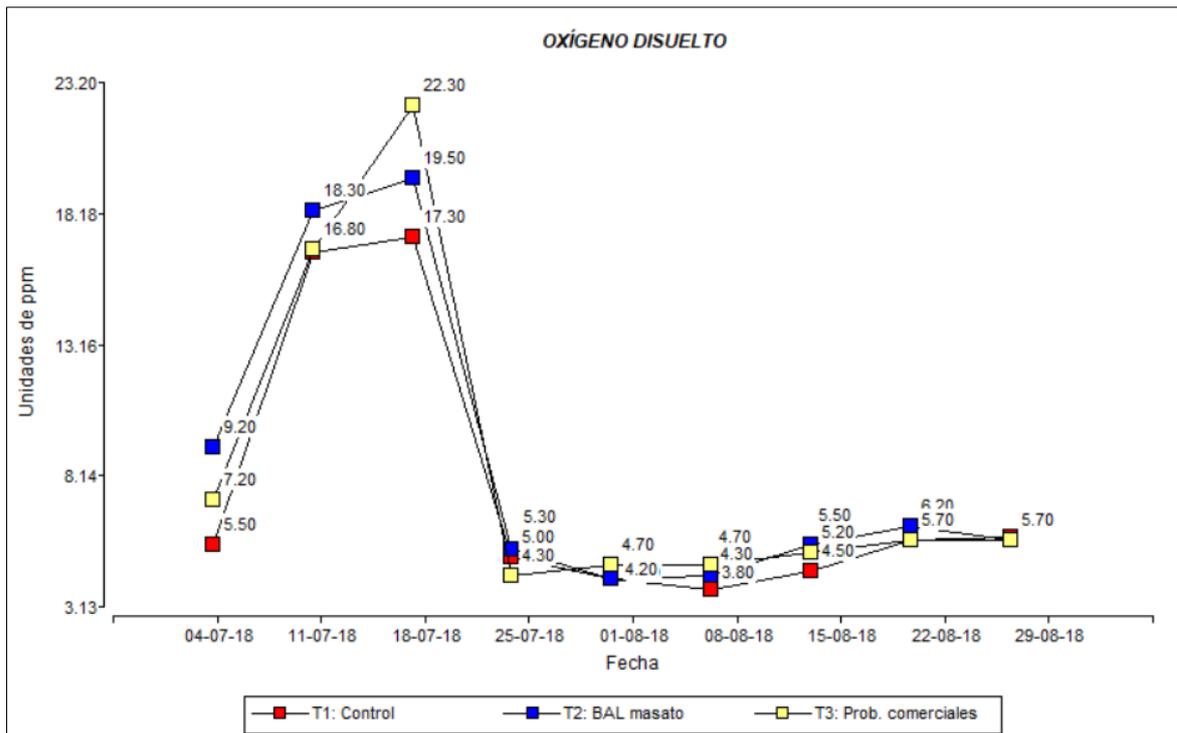


Figura 15. Variación semanal del oxígeno disuelto según los tratamientos experimentales. Fuente: Elaboración propia.

b. pH

En la Figura 16 se muestran los valores de pH obtenidos semanalmente en los tratamientos experimentales durante la fase experimental. Se puede observar que los valores de pH del agua fluctuaron entre 5.1 como valor mínimo y 7.3 como valor máximo, permaneciendo dentro de los rangos normales para el desarrollo de los juveniles de “paco”.

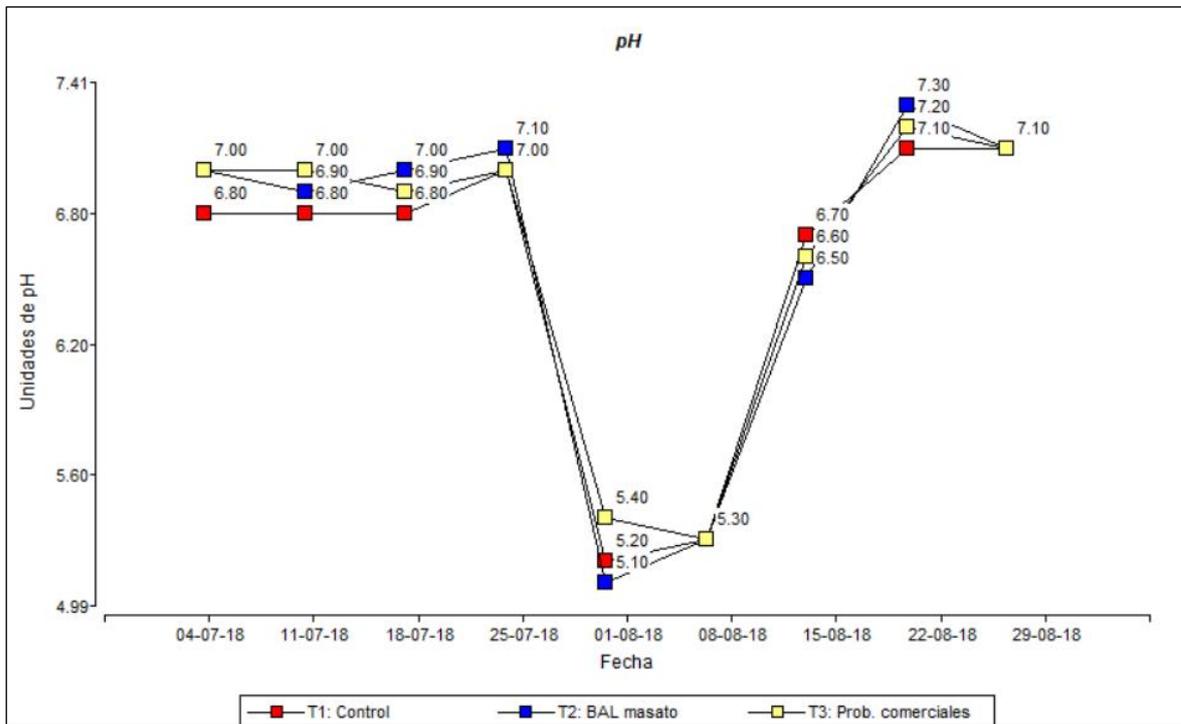


Figura 16. Variación semanal del pH según los tratamientos experimentales.
Fuente: Elaboración propia.

c. Amonio

En la Figura 17 se muestran los valores de Amonio obtenidos semanalmente en los tratamientos experimentales. Se observa que los valores de amonio del agua fluctuaron entre 0.16 mg/l para el T1; 0.14 mg/l para el T2 y 0.15 mg/l para el T3, llegando a un valor máximo de 1.50 mg/l para todos los tratamientos, permaneciendo dentro de los rangos normales para el desarrollo de los juveniles de “paco”.

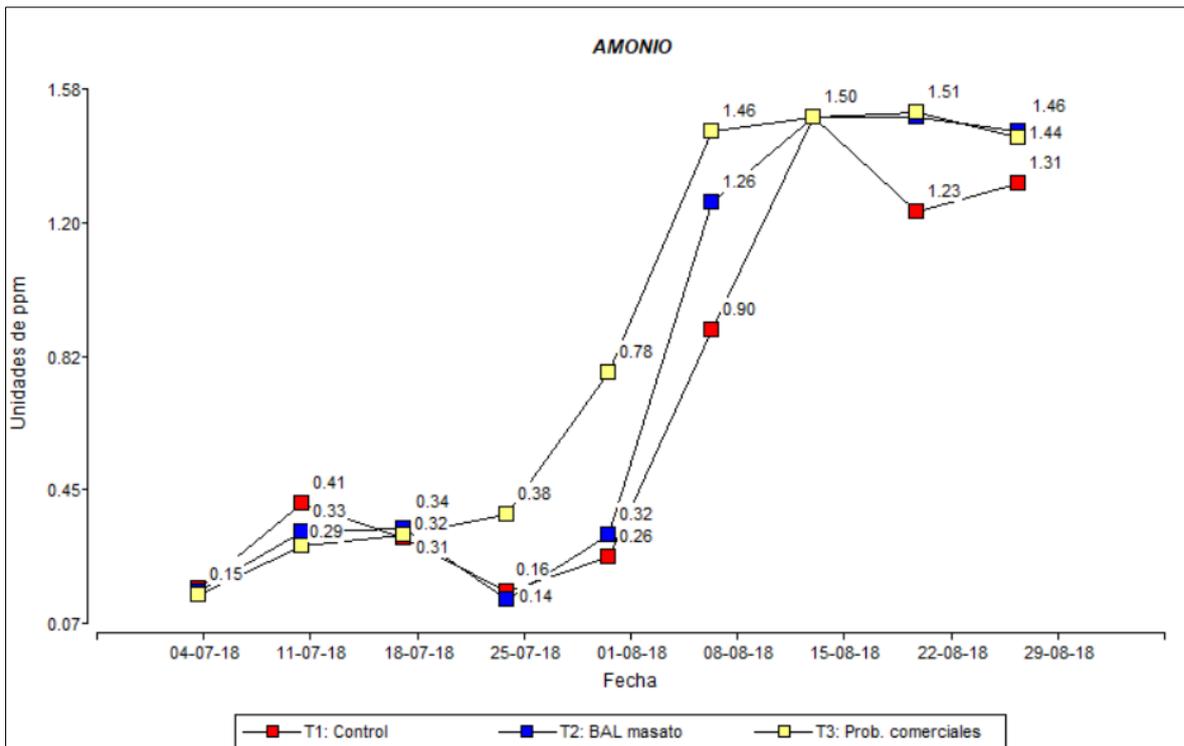


Figura 17. Variación semanal del amonio según los tratamientos experimentales.
Fuente: Elaboración propia.

d. Sólidos totales disueltos

En la Figura 18, se muestran los valores de sólidos totales disueltos en el agua obtenidos semanalmente en los tratamientos experimentales. Se observa que los valores de STD del agua fluctuaron entre 332 mg/l para el T1; 331 mg/l para el T2 y 333 mg/l para el T3, llegando a un valor máximo de 551 mg/l para el T1; 481 mg/l para el T2 y 490 mg/l para el T3, permaneciendo dentro de los rangos normales para el desarrollo de los juveniles de “paco”.

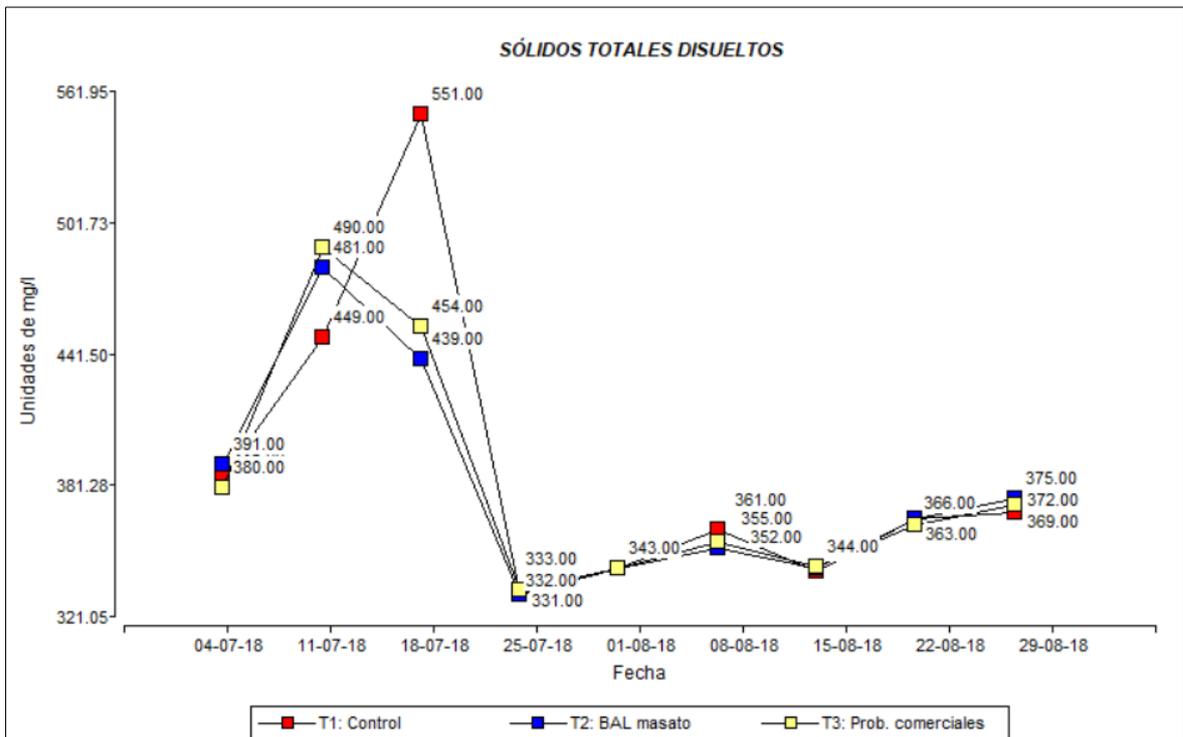


Figura 18. Variación semanal de los sólidos totales disueltos según los tratamientos experimentales. Fuente: Elaboración propia.

e. Conductividad eléctrica del agua

En la Figura 19, se muestran los valores de la conductividad eléctrica del agua obtenidos semanalmente en los tratamientos experimentales. Se observa que los valores de la conductividad eléctrica del agua fluctuaron entre 0.46 dS/m para los tres tratamientos como valor mínimo y 0.76 dS/m para el T1, 0.67 dS/m para el T2 y 0.64 dS/m para el T3 como valores máximos, permaneciendo dentro de los rangos normales para el desarrollo de los juveniles de “paco”.

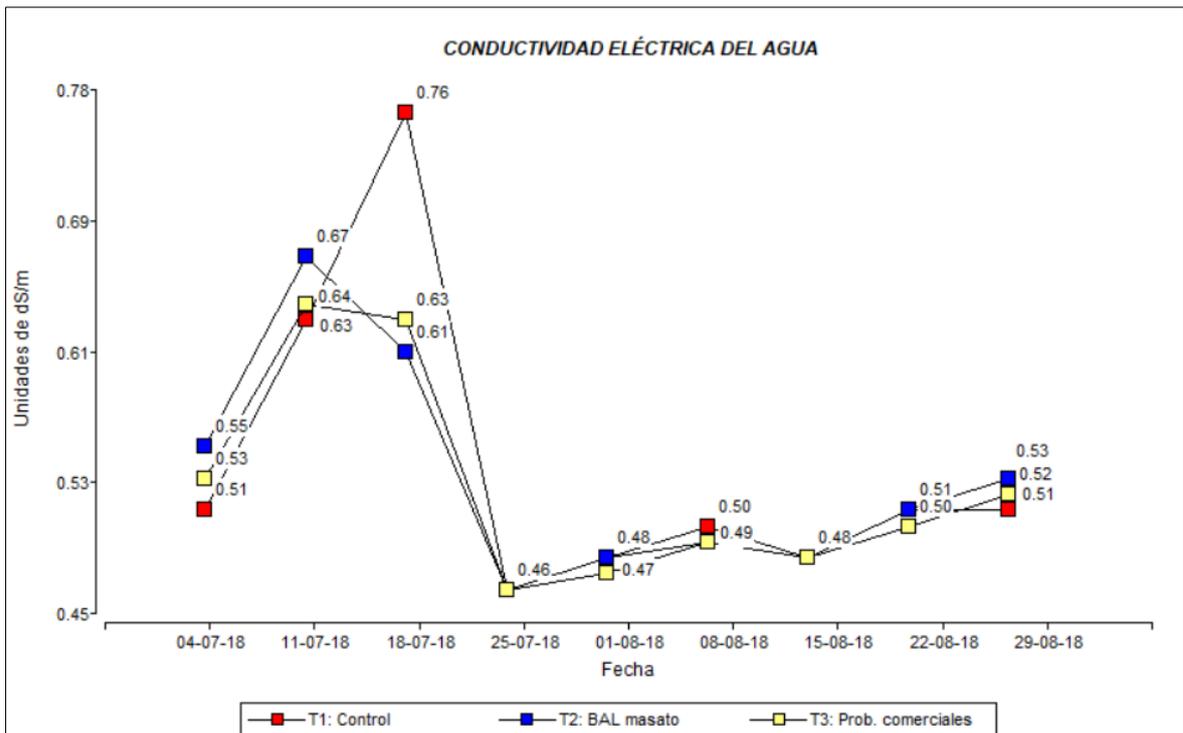


Figura 19. Variación semanal de la conductividad del agua según los tratamientos experimentales. Fuente: Elaboración propia.

f. Cloro

Durante el tiempo experimental de cultivo, el valor del cloro en el agua se mantuvo en 0.1 ppm en todos los tratamientos.

CAPÍTULO IV: DISCUSIONES

4.1. Aislamiento de las bacterias ácido lácticas del masato

En la presente investigación fueron identificados un total de 11 aislados con características bioquímicas primarias del género *Lactobacillus*, en los fermentos de masato de “yuca”. En una investigación realizada por Brauman *et al.* (1996), demostraron que la fermentación natural de “yucas” hidratadas, que sirven como insumo para la elaboración de chikwangue, pan de “yuca” elaborado por comunidades del Congo, era de tipo anaerobia facultativa y que la principal microflora con dicho metabolismo fueron bacterias del género *Lactobacillus*. Por su parte Carvalho *et al.* (1999), también comprobaron que el género *Lactobacillus* es el principal grupo microbiano fermentativo de fécula de “yuca” empleada en la preparación de pan de queso en Brasil.

De manera similar, Arias *et al.* (2009a) en una primera investigación realizaron la identificación molecular de levaduras aisladas del masato y como resultado obtuvieron 46 cepas de levadura en 4 tipos de masato, siendo *S. cerevisiae* la especie predominante y en su segunda investigación Arias *et al.* (2009b) realizaron la caracterización fisiológica y enzimática de *S. cerevisiae* aisladas de masato, resultando que las cepas de *S. cerevisiae* de masato presentan propiedades fisiológicas y tecnológicas interesantes como la tolerancia al estrés por pH bajo (2.8, 3.0 y 3.2) y la tolerancia a elevadas temperaturas (46 °C).

Por su parte, Sedano (2006), identificó 81 cepas de *Lactobacillus* aisladas de 11 muestras de masato provenientes de la ciudad de Pucallpa – Ucayali, las cuales fueron sembradas en agar MRS pH 6.5 e incubadas a 30 °C por 72 horas en condiciones de microaerofilia. Sin embargo, en el presente trabajo, bajo las mismas condiciones se pudieron obtener 11 aislados, debido a que solo se ha empleado un solo tipo de masato, a diferencia del autor en

mención que empleó 5 diferentes tipos de preparaciones, incluyendo el masato con masticación. Cabe resaltar, que las condiciones de cultivo y el empleo de cicloheximida coincide con la presente metodología de trabajo, por lo que el protocolo es idóneo para el aislamiento de bacterias del género *Lactobacillus*.

4.2. Proceso de microencapsulación

Krasaekoop *et al.* (2003) y Krasaekoop *et al.* (2004) refieren que se necesitan mayores investigaciones para proteger y mejorar la biodisponibilidad de los microorganismos en el tracto gastrointestinal de los animales. Hinestroza-Córdova y López-Malo (2008) refieren que la encapsulación en alginato de sodio es la técnica más usada, debido a su bajo costo y sencillez en su proceso de preparación, además, garantiza la viabilidad de las bacterias probióticas y de ácido láctico que se vienen incorporado a alimento funcionales.

Por ello, en el presente estudio se realizaron diferentes concentraciones de alginato mezclado con los tratamientos T1, T2 y T3, con la finalidad de obtener las condiciones óptimas y adecuadas para la elaboración de las microcápsulas de alginato. Según Agarry *et al.* (2005) para proteger su contenido y evitar la pérdida durante el trayecto del tracto gastrointestinal, es necesario estabilizar el material de la microcápsula. Simó *et al.* (2017) refiere que, una óptima microcápsula en tamaño y forma depende de la viscosidad del alginato de sodio.

Para la forma y tamaño de las microcápsulas se utilizó el alginato de sodio a una concentración del 1 %, este porcentaje se encuentra dentro del rango de 0.5 hasta 2 % recomendado por Castillo *et al.* (2017) y dentro de 1 hasta 3 % referido por Hinestroza-Córdova y López-Malo (2008). Además, Castillo *et al.* (2017) aseguran que, para la obtención de la consistencia deseada y durabilidad de las microcápsulas, es muy importante la concentración de CaCl_2 , por lo tanto, en el presente experimento el CaCl_2 se usó a una concentración de 0.1 M, encontrándose dentro de lo recomendado por Castillo *et al.* (2017) 0.025 M y 0.1 M. El alimento concentrado se usó a una proporción del 30 %.

Rosas-Ledesma *et al.* (2012) aseguran que la encapsulación microbiana viene siendo utilizada para mantener la viabilidad probiótica en alimentos para humanos, sin embargo, en la alimentación animal no se reportan muchas investigaciones, mostrando la necesidad de mayores estudios, de modo especial, en el campo de la acuicultura. Por lo tanto, el presente estudio, responde a esta necesidad y pretende ser una contribución importante para el desarrollo de uno de los sectores estratégicos más importantes del Perú.

De este modo, Gutiérrez *et al.* (2016) evaluaron el efecto de la incorporación en la alimentación, de probióticos microencapsulados sobre los parámetros zootécnicos de peso y longitud en alevinos de “tilapia roja” (*Oreochromis sp.*), obteniendo resultados favorables con la inclusión de 1 ml/kg de probióticos microencapsulados y sin utilizar microencapsulados. Gutiérrez (2012), evaluó la inclusión de 6.8 y 10 ml de probióticos de la marca Amino Plus por kg de alimento, obteniendo mayores resultados en 10 ml/kg. Vargas (2009) reportaron la dosis óptima de probióticos para los indicadores de rendimientos productivos: 0.70 ml/g en el peso vivo, 2.73 ml/g en la conversión alimenticia y 1.97 ml/g en la biomasa acumulada.

4.3. Viabilidad de las bacterias ácido lácticas del masato y los microorganismos probióticos comerciales en las microcápsulas

De acuerdo con la Figura 4, se puede apreciar los resultados del análisis de la viabilidad realizado a las microcápsulas, este procedimiento se realizó con la metodología sugerida por De la Cruz y Terán (2013), a las bacterias ácido lácticas concentradas, obteniendo como resultado para el consorcio de microorganismos probióticos comerciales VIVOLAC® la cantidad de 6.5×10^5 UFC/ml y para el consorcio de bacterias ácido lácticas del masato 4×10^5 UFC/ml, inicialmente, el mayor recuento de microorganismos viables lo presentaron los microorganismos probióticos comerciales durante el segundo y tercer día con 4.55×10^6 UFC/ml y 3.3×10^6 UFC/ml, respectivamente.

Por su parte, las bacterias ácido lácticas aisladas del masato se mantuvieron oscilando entre 1.3×10^6 UFC/ml al segundo día y 0.3×10^6 UFC/ml al tercer día, por lo que se considera

que ambas poblaciones se mantienen viables en el sustrato hasta el quinto día de almacenamiento, donde se observó un recuento de 0.15×10^6 UFC/ml para los microorganismos probióticos comerciales VIVOLAC® y 0.1×10^6 UFC/ml para las bacterias ácido lácticas aisladas del masato.

Aunque los sustratos para la preparación de los medios de cultivos favorecen de manera distinta a los microorganismos según Marín *et al.* (2009), se obtienen conteos por encima del criterio identificado para la industria láctea 1.0×10^6 UFC/ml según el Codex alimentarius (2007). Diversos autores como Raida *et al.* (2003), Salinas *et al.* (2005), Merrifield *et al.* (2010), Nayak, (2010), Sun *et al.* (2010) y He *et al.* (2011) mencionan que la inclusión de microorganismos probióticos exógenos en las dietas para peces ha mostrado un efecto positivo, las respuestas inmunes y aumentando la resistencia a los patógenos.

Al finalizar la etapa del experimento (60 días) se realizó el aislamiento y conteo de UFC/ml de microorganismos ácido lácticos presentes en el tracto digestivo de un individuo de cada tratamiento. El procedimiento se realizó según Quispe (2017), haciendo un corte del intestino delgado para realizar un raspado de la mucosa intestinal de los peces de cada tratamiento, obteniendo como resultado para el T1: 0; T2: 6.35×10^{10} y T3: 5.05×10^8 UFC/ml. Cabe resaltar que los resultados del T2 y T3 evidenciaron una mejor colonización de los microorganismos ácido lácticos del masato en el tracto digestivo del “paco” en comparación con el tratamiento T1.

De este modo Días *et al.* (2018) evaluaron el efecto de la suplementación dietética con el probiótico autóctono *Bacillus cereus* sobre el rendimiento del crecimiento, los parámetros hematológicos y la sobrevivencia de la “gamitana”, con las dietas control (sin probiótico), T1: 4.2×10^4 , T2: 3.9×10^6 y T3: 3.3×10^8 UFC/ ml, concluyendo que, *B. cereus* mejora las respuestas fisiológicas y hematológicas de estos peces. El 100 % de sobrevivencia reportado en el presente estudio con *Piaractus brachipomus* se puede deber al estadio juvenil de los “pacos” que con menores cantidades de UFC/ml en el alimento obtuvieron una mayor sobrevivencia al reportado por Días *et al.* (2018) quienes trabajaron con alevines de “gamitana” y observaron una tasa de 88.8 %, 80.5 % y 80.5 % de sobrevivencia con

Colossoma macropomum alimentados con dietas suplementadas con 4.2×10^4 , 3.9×10^6 y 3.3×10^8 UFC/g de *B. cereus*, respectivamente.

4.4. Índices productivos

Crecimiento de los peces

Los resultados del análisis de varianza mostraron que los tratamientos administrados tuvieron efecto significativo ($p \leq 0.05$) en la ganancia de peso de los “pacos”. Se observó una mayor ganancia de peso en el tratamiento T1: 102.85 g y en el tratamiento T2: 98.29 g. Los resultados del análisis de la varianza de las longitudes mostraron que los tratamientos administrados tuvieron un efecto significativo ($p \leq 0.05$) en el incremento en longitud. El tratamiento T1: 16.01 cm y el tratamiento T2: 15.62 cm tuvieron un mayor incremento en longitud.

Estos resultados evidencian la eficacia de la adición de bacterias ácido lácticas provenientes del masato en la alimentación de los juveniles de “paco”, a pesar de su baja dosis (1 ml/kg de alimento) a una densidad de 4 peces/50 l. Resultados superiores obtuvo Satalaya (2013) quien utilizó microorganismos eficientes EM con una mayor dosis de los probióticos en el alimento T0: 0 ml/kg, T2: 2 ml/kg, T3: 4 ml/kg y T4: 6 ml/kg, para el cultivo de alevinos de *Piaractus brachypomus* en segunda fase de alevinaje durante un periodo de 90 días de cultivo y reporta peso promedio final de 147.36 g y una longitud final de 17.21 cm con una dosis de 6 ml de EM /kg de alimento balanceado, a diferencia de los resultados inferiores obtenidos por Valencia (2017) al evaluar la ganancia de peso y el crecimiento en longitud de alevines de *Piaractus brachypomus*, utilizando el suplemento probiótico EM a una dosificación del 4 % de la ración diaria, reportando al final del experimento (60 días) una ganancia de peso promedio final de 18.86 g y un incremento de longitud promedio final de 11.15 cm.

En otro estudio con *Colossoma macropomum* realizado durante 120 días por Días *et al.* (2018), se obtuvo una ganancia de peso promedio final de 36.63 g y un incremento de

longitud promedio final de 42.6 cm, mientras que Ríos y Pérez (2012), evaluando durante 120 días el efecto de la inclusión de levadura de cerveza en las dietas de “gamitanas”, obtuvieron una ganancia de peso promedio final de 48.4 g y un incremento de longitud promedio final de 6.03 cm, por otra parte en la investigación realizada por Gutiérrez *et al.* (2016) con *Oreochromis* sp. evaluaron el efecto de probióticos microencapsulados sobre los parámetros zootécnicos de peso y longitud en los alevinos de tilapia, reportando una ganancia de peso promedio final de 0.13 g y un incremento de longitud promedio final de 0.19 cm durante 40 días.

Estos resultados concuerdan con estudios realizados por Raida *et al.* (2003), Salinas *et al.* (2005), Merrifield *et al.* (2010), Nayak, (2010), Sun *et al.* (2010) y He *et al.* (2011) quienes aseguran que la inclusión de microorganismos probióticos exógenos en las dietas alimenticias para peces muestra un efecto positivo que se ve reflejado en la mejora de los parámetros productivos.

Índice de conversión alimenticia aparente

Los resultados de la eficiencia en el índice de conversión alimenticia aparente (Tabla 9) muestran que, con el tratamiento T3 se obtuvo una mayor eficiencia con un valor de 3.69 ± 1.221 con respecto al tratamiento T1 que presentó un valor de 3.98 ± 2.179 y el tratamiento T2 un valor de 4.80 ± 3.974 , este resultado indica que el uso de probióticos comerciales en la ración mejora la conversión alimenticia y la flora intestinal de los juveniles de “paco”. En contraste, Satalaya (2013), en su estudio con alevines de *Piaractus brachypomus*, obtuvo una mayor eficiencia en el índice de conversión alimenticia aparente de 1.65 en el tratamiento T3: 6 ml/kg de probiótico EM, que recibió una mayor dosis de probióticos EM.

De la misma manera, Hualinga (2013) en su estudio con alevines de “paco”, con el tratamiento T1: 6 ml/kg de probiótico EM, obtuvo un ICAA de 1.5. Estas diferencias podrían relacionarse al aporte de fuentes alimenticias propias de los estanques en dichos estudios, principalmente zooplancton. Sin embargo, en otro estudio realizado por Valencia (2017) obtuvieron un ICAA de 1.6 adicionando el suplemento probiótico EM al alimento en una dosificación de 4 % a la ración diaria de alevinos de *Piaractus brachypomus*, este resultado

podría deberse a la diferencia de los estadios de *Piaractus brachypomus* utilizados en los estudios.

Tasa de crecimiento específico

Los resultados obtenidos para la tasa de crecimiento específico (Tabla 9), registraron mayor TCE en el tratamiento T1: 2.67, seguido del tratamiento T2: 2.62 y el menor fue para el tratamiento T3: 2.57. Resultados similares obtuvieron Hualinga (2013) con una TCE de 2.6, en el tratamiento T1 con una dosis de 6 ml/kg de probióticos EM por kg de alimento balanceado, Satalaya (2013) con una TCE de 2.75 en el tratamiento T3 con una dosis de 6 ml/kg de probióticos EM por kg de alimento balanceado y Valencia (2017) con una TCE de 2.13 en el tratamiento T1 con una dosificación de probióticos EM al 4 % de la ración diaria.

Factor de condición

Froese (2006) menciona que el factor de condición es una forma de valorar el estado general de un pez y es utilizado para comparar la condición o bienestar de un pez o de una población, que puede asociarse a una evaluación de la contextura o estado de delgadez u obesidad, basándose en que los peces de mayor peso, a una determinada longitud, presentan una mejor condición. Los resultados del factor de condición (Tabla 9), indican un mayor factor de condición en el tratamiento T2: 2.19 seguido del tratamiento T3: 2.11 y por último el tratamiento T1: 2.10. Resultados similares obtuvo Hualinga (2013) en el tratamiento T1 con un factor de condición de 2.3 indicando que es beneficioso para el desarrollo de *Piaractus brachypomus* en un sistema de cultivo intensivo.

Supervivencia

En el presente estudio se obtuvo el 100 % de la supervivencia de los juveniles de *Piaractus brachypomus* a una densidad de 4 peces/50 l, en todos los tratamientos. A diferencia de Valencia (2017), que evaluaron durante un mes la ganancia de peso y crecimiento de *P. brachypomus* con diferentes densidades y adición de probióticos al alimento con una dosificación del 4 % a la ración diaria y reportaron que obtuvieron un mayor rendimiento a una densidad de 5 alevines/50 l con una supervivencia del 60 hasta el 100 %.

Por otro lado, Hualinga (2013) obtuvo resultados similares con una supervivencia del 100 % en todos los tratamientos, evaluando el efecto del probiótico EM[®]-AGUA en el crecimiento y composición corporal de *Piaractus brachypomus* adicionando el probiótico EM[®] AGUA a una densidad de 2 peces/m² y Satalaya (2013) evaluando el efecto del probiótico EM (microorganismos eficientes) en diferentes dosis incorporados en el alimento comercial, sobre el crecimiento de alevinos de *Piaractus brachypomus*, en la segunda fase de alevinaje confinados en 20 peces por jaula, con una supervivencia del 100 % con el tratamiento T3: 6 ml/kg de alimento.

4.5. Parámetros físicos del agua

La temperatura es uno de los factores abióticos más importantes que pueden interferir con las funciones bioquímicas y fisiológicas de un pez por su característica poiquilotérmica (Paschke *et al.*, 2018), por ende, la temperatura ayuda a la asimilación o inhibe el proceso de transición gástrica, además, la temperatura está asociada fuertemente al oxígeno disuelto en el agua (Pinto *et al.*, 2019). Los valores de temperatura obtenidos en el presente trabajo (25.1 °C como valor mínimo y 31.2 °C como valor máximo) están dentro de los valores que se consideran óptimas 25 °C y 30 °C para el cultivo de peces tropicales según FONDEPES (2004). Garcia *et al.* (2008) consideran que la mejor temperatura para la producción de *Piaractus brachypomus* oscila entre 23 y 29 °C, aunque se desconocen los límites térmicos letales.

4.6. Parámetros químicos del agua

La concentración de oxígeno disuelto en esta investigación T1: 7.6 ± 5.361 ; T2: 8.7 ± 5.984 y T3: 8.5 ± 6.486 mg/l se mantuvo ligeramente superior a los rangos de normoxia 5.5 - 7.5 mg/l para *Piaractus brachypomus*. Según Dabrowski *et al.* (2003), el oxígeno disuelto en el agua es uno de los principales factores limitantes para la vida acuática, afectando la eficiencia productiva disminuyendo en consumo de alimento y la ganancia de peso en valores de hipoxia 2.0 - 4.5 mg/l. Pang *et al.* (2013) y Pinto *et al.* (2019) mencionan que la variación elevada de la temperatura afecta la respuesta del “paco” juvenil a ROS (reactive oxygen species) desarrollando un desequilibrio en la capacidad antioxidante total, sugiriendo que el cambio de temperatura afecta el sistema de defensa antioxidante del “paco”.

El pH registrado en este estudio osciló entre 5.1 como valor mínimo y 7.3 como valor máximo, encontrándose dentro del rango adecuado para el cultivo de *Piaractus brachipomus*. Resultados similares registró Hualinga (2013) con valores entre 6.5 como valor mínimo en horas de la mañana y 7.9 como valor máximo en horas de la tarde, a diferencia de Valencia (2017) quien reportó valores de 8.79 en promedio y Satalaya (2013) con valores de 8.01 en promedio, concordando con Ríos y Pérez (2012) quienes recomiendan que los valores de pH deben encontrarse en el rango de 6.5 y 8.5 para no tener problemas en el crecimiento de los “pacos”.

En la Figura 17, se muestra el amonio obtenido en los tratamientos experimentales con un valor mínimo de 0.14 mg/l y con un valor máximo de 1.5 mg/l, resultados similares registró Hualinga (2013) con valores mínimos de 0 mg/l y valores máximos de 1 mg/l. Asimismo, Valencia (2017) que trabajó con alevines de *Piaractus brachipomus* reportó un valor promedio de amonio de 0.32 mg/l y Ríos y Pérez (2012) que trabajaron con *Colossoma macropomum*, indican que los valores de amonio se encuentran en el rango de 0.006 mg/l y 1 mg/l para el cultivo de especies amazónicas, considerando que el amonio es producto de la excreción de los peces y la descomposición de la materia orgánica del alimento ofrecido, se puede asumir que las diferencias de amonio en el agua registradas en las distintas investigaciones se debe al estadio de los “pacos” en los experimentos.

El valor de los sólidos totales disueltos fluctuó entre de 331 mg/l como mínimo y 551 mg/l como máximo y la conductividad eléctrica del agua varió entre 0.46 dS/m y 0.76 dS/m. Sin embargo, Valencia (2017) reportó valores superiores, con un valor de 774.99 ± 498.41 mg/l para los sólidos totales disueltos y valores inferiores con 0.012 ± 0.01 dS/m para la conductividad eléctrica, por lo tanto, el valor de sólidos totales disueltos en la investigación se mantuvo por debajo de los valores reportados por Valencia (2017) para especies amazónicas.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio se puede concluir lo siguiente:

1. Se identificó un total de 11 aislamientos con características bioquímicas primarias del género *Lactobacillus*, provenientes del masato.
2. Las microcápsulas de alginato de sodio a una concentración del 1 % para la forma y tamaño, además de la concentración de 0.1 M de CaCl₂, tuvo la eficiencia deseada para encapsular el alimento a una proporción del 30 %.
3. Las microcápsulas de alginato resultaron viables para ser administradas oralmente en la alimentación de los “pacos” dentro de un periodo de 5 días.
4. Se determinó que el efecto de los microorganismos ácido lácticos provenientes del probiótico comercial y del masato tuvieron un efecto significativo en la ganancia de peso promedio y el crecimiento en longitud promedio ($p \leq 0.05$), según el análisis de varianza (ANOVA).
5. La nula tasa de mortalidad reportada en los tres tratamientos muestra que el manejo de los juveniles de “paco” a nivel experimental fue óptimo y pone en evidencia el alto grado de la adhesión y colonización de los microorganismos ácido lácticos dentro del tracto digestivo de esta especie como un suplemento alimenticio microencapsulado.

Los microorganismos aislados del masato surgen como una alternativa para su uso en la alimentación de peces. Además, podría ser una excelente alternativa para promover el uso de cepas autóctonas, potenciando la diversidad de la microflora de los peces en la producción del sector acuícola peruano.

CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio se hacen las siguientes recomendaciones:

1. Determinar la mejor concentración de la inclusión de los microorganismos ácido lácticos del masato en concentraciones superiores a 1 ml/ kg, y realizar la evaluación de la viabilidad de las bacterias ácido lácticas del masato microencapsulado por periodos superiores a 5 días.
2. Realizar estudios de la digestibilidad de la proteína y la materia orgánica de las dietas suplementadas con bacterias ácido lácticas, para comprobar el efecto de los probióticos sobre la digestibilidad en especies acuícolas amazónicas.
3. Realizar la identificación y evaluación del efecto de los microorganismos ácido lácticos del masato en otras especies de peces amazónicos con potencial acuícola y en diferentes fases de cultivo (larvas, postlarvas, alevinos y reproductores).
4. Estudiar el efecto de otros tipos de microorganismos ácido lácticos provenientes de insumos de la amazonia peruana en el crecimiento de peces amazónicos con potencial acuícola.
5. Realizar las investigaciones con los microorganismos ácido lácticos del masato con estanques de cultivos en las condiciones naturales de pacos, para obtener resultados en las condiciones reales.
6. Realizar el estudio de la viabilidad técnico-económica y financiera de la utilización de microorganismos ácido lácticos del masato en la producción de organismos acuícolas.

REFERENCIAS

- Agarry, O. O., Olaleye, M.T. y Bello, M. (2005). Comparative antimicrobial activities of Aloe vera gel and leaf. *African Journal of Biotechnology*. 4(12), 1413-1414.
- Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas. (2018). Primera reunión científica del consorcio. Puebla, México.
- Albornoz, J. C. F. (1998). *Utilización de una Alfa-amilasa Bacterial y levadura de Panificación en la Elaboración del "Masato"*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú.
- Arias, A., Barrio, E., Quillama, E., Querol, A. (2009a). Identificación molecular de levaduras aisladas del masato, bebida fermentada tradicional. XIII Congreso Nacional de Bioingeniería y VII Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras. Acapulco, México.
- Arias, A., Barrio, E., Quillama, E. y Querol, A. (2009b). Caracterización fisiológica y enzimática de *Saccharomyces cerevisiae* aisladas de masato, bebida fermentada tradicional de Perú. XIII Congreso Nacional de Bioingeniería y VII Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras. Acapulco, México.
- Axelsson, L. (1998). *Lactic acid bacteria: Classification and Physiology Lactic acid bacteria, Microbiology and functional aspects*. USA, New York: Salminen, S. y Wright, A. von, eds., 2nd edition. pp. 1-72.
- Azadnia, P., Zamani, M., Ghasemi, S. A., Khalegh, B. A., Karimi, J. M. y Taarof, N. (2011). Isolation and identification of thermophilic *Lactobacillic* from tradicional yoghurts of tribes of Kaserum. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(6), 774-776.
- Balcazar, J. (2002). *Uso de probióticos en acuicultura: Aspectos generales*. Facultad de Acuicultura, Universidad de Machala. Ecuador.
- Barthens, R. y Guerra, H. (1992). *Diagnóstico de Recursos Hidrobiológicos de la Amazonía*. Lima, Perú. pp. 86.
- Barua, P y Chakraborty, S. (2011). Proximate composition of egg: Stomach content and body composition of Pacu (*Piaractus brachypomus*) collected from aquatic environment of Bangladesh. *Current Biotica*. (5), 330-343.

- Betancourt, D. M. (2014). *Efecto de Lactobacillus plantarum lab 9 sobre el crecimiento y sobrevivencia de alevinos y juveniles de tilapia roja (Oreochromis sp.)*. (Tesis de Grado). Universidad de Nariño. San Juan de Pasto, Colombia. Recuperado de <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/90058.pdf>
- Brauman, A., Keleke, S., Malonga, M., Mavoungou, O., Ampe, F. y Miambi, E. (1996). Cassava Lactic Fermentation in Central Africa: Microbiological and Biochemical Aspects. Colombia, Cali: Dufour, D., O'Brien, G., Best, R. 197-209.
- Campos, B. L. E. (2015). *El Cultivo de la "Gamitana" en Latinoamerica*. Perú, Iquitos: Gabriel Vargas Arana y Manuel Martín Brañas.
- Carr, F., Chill, D. y Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28 (4), pp. 281-370
- Carvalho, E. P., Canhos, V. P., Asquieri, E. R., Vilela, E. R. y Carvalho, H. P. (1999). Determinación de la flora microbiana de la fécula de yuca fermentada (Polvilho Azedo) durante las diferentes etapas de procesamiento. *Alimentaria*, 97-103.
- Castillo, S. L., Alvarado, J. M., Baez, J. G., Macías, E., Ramírez-Baca, P., Candelas-Cadillo, M. G. y Gallardo C.T. (2017). Diseño de microcápsulas de alginato con matriz prebiótica de aloe vera para la encapsulación de *Lactobacillus plantarum*. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2(1), 531-536.
- Castro, B., Monroy, D., Castro, M., Lara, A. y Castro, M. (2011). Efecto de cuatro probióticos en el crecimiento y la sobrevivencia de *Carassius auratus*. *Ciencia Pesquera*, 19(1), 21-28.
- Coaricona, C. F. Y. (2008). *Simulación del comportamiento de la difusividad térmica del masato (masa de yuca fermentada diluida, en función al porcentaje de humedad)*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú.
- Codex Alimentarius. (2007). Leches fermentadas, Codex Stan 243-2003. Recuperado de: www.fao.org/input/download/standards/400/CXS_243s.pdf+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=cl
- Colquehuanca, M. E. (2015). *Efecto de diferentes niveles de dietas alimentarias en base a torta de sacha inchi (Plukenetia volubilis) en la alimentación de "paco" (Piaractus brachypomus) en la región madre de dios*. (Tesis de grado). Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú. Recuperado de

http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4046/Colquehuanca_Mamani_Esther_Yanet.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Copatti, C. E., Baldisserotto, B., Freitas-Souza, C. y Garcia, L. (2019). Protective effect of high hardness in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) under acidic or alkaline pH: Biochemical and haematological variables. *Aquaculture*, 502, pp. 250-257.
- Cyrino J., Urbinati, E. C., Fracalossi, D. y Castagnolli, N. (2004). Nutrição de peixes. Tópicos especiais em piscicultura de agua doce tropical intensiva. São Paulo. TecArt. 5, 75-170 p.
- Dabrowski, K., Rinchar, J., Ottobre, J. S., Alcantara, F., Padilla, P., Ciereszko, A., De Jesus, M. J. y Kohler, C. C. (2003), Effect of Oxygen Saturation in Water on Reproductive Performances of Pacu *Piaractus brachypomus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34: 441-449. doi:10.1111/j.1749-7345.2003.tb00083.x
- De la Cruz, A.V., y Terán, A. R. (2013). *Evaluación de la viabilidad de Lactobacillus casei libre y encapsulado en alginato sódico como probiótico en jugo de guayaba*. (Tesis de grado). Escuela Agrícola Panamericano, Zamorano, Honduras. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1785/3/AGI-2013-T012.pdf>
- De Man, J., Rogosa, M. y Sharpe, E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology*. 23: 130-155.
- Dias, J. A. R., Abe, H. A., Sousa, N. C., Couto, M. V. S., Cordeiro, C. A. M., Meneses, J. O. y Fujimoto, R. Y. (2018). Dietary supplementation with autochthonous *Bacillus cereus* improves growth performance and survival in tambaqui *Colossoma macropomum*. *Aquaculture Research*, 49(9), 3063–3070. doi:10.1111/are.13767
- Doetsch, R. N. (1981). *Determinative methods of light microscopy: Manual of Methods for General Bacteriology*. USA, Washington, DC: Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Costilow, R.N., Nester, E.W., Wood, W.A., Krieg, N.R., Phillips, G.B. pp. 21–33.
- Faramarzi, M., Kiaalvandi, S., Lashkarbolooki, M. y Iranshahi, F. (2011). The investigation of *Lactobacillus acidophilus* as probiotics on growth performance and disease resistance of Rain Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 6(1), pp. 32-38.
- Favaro, T., Pinho, S. y Rocha, G. (2008). Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*. 11(2), pp. 103-112.

- Fresneda, G., Lenis, E. Agudelo, M. y Olivera-Angel. (2004). Espermiación inducida y crioconservación de semen de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 17, pp. 46 – 52.
- Froese, R. (2006). Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*. 22, 241-253.
- Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (2004). *Manual de cultivo de la “gamitana”*. Perú, Lima: Alfredo Palomino Ramos. Recuperado de http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manual_gamitana.pdf
- Food and Agricultural Organization. (2019). Fishery and Aquaculture Statistics. Global aquaculture production 1950-2017 (FishstatJ). In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 2019. www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en
- Food and Agricultural Organization. (2005). Visión general del sector acuícola nacional – Perú. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Recuperado de http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_peru/es
- García, L. D. O., Copatti, C. E., Wachholz, F., Pereira Filho, W., y Baldisserotto, B. (2008). Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication for fish culture. *Neotropical Ichthyology*, 6(2), 275– 281. <https://doi-org.uchile.idm.oclc.org/10.1590/S1679-62252008000200016>
- García, L. M. M. y Gallardo A. R. (2014). Efecto de la densidad de siembra en el crecimiento de alevinos de “gamitana”, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), alimentados con harina de pijuayo, *Bactris gasipaes* (H.B.K); criados en jaulas. (Tesis de grado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Iquitos, Perú. Recuperado de http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3445/Marcial_Tesis_Titulo_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Gatesoupe, F. J. (2008). Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of Molecular Microbiological Biotechnology*, 14(1), pp.107-114.
- González, A. R. (2001). El cultivo de la Camacha. Recuperado de http://digitool.gsl.com.mx:1801/webclient/StreamGate?folder_id=0&dvs=1519935823909~546

- Grosell, M., Farrell, P. A. y Brauner, J. C. (2010). *The multifunctional gut of fish*. Usa, San Diego: Elsevier, Academic Press.
- Guidoli, M. G., Hernández, D. R., Boehringer, S. I., Sánchez, S. y Nader-Macías, M. E. F. (2016a). Administration of three autochthonous *Bacillus subtilis* strains induce early appearance of gastric glands and vestiges of pylorus in *Piaractus mesopotamicus* larvae. *Journal of Bioprocessing Biotechniques*, 6, pp 271. doi: 10.4172/2155-9821.1000271.
- Guidoli, M. G., Hernández, D. R., Boehringer, S. I., Sánchez, S. y Nader-Macías, M. E. F. (2016b). In vivo evaluation of indigenous Enterococci strains on biometrical parameters of *Piaractus mesopotamicus* embryos and larvae. *International Journal of Aquaculture*. 6, 2. doi:10.5376/ija.2016.06.0002.
- Guidoli, M. G., Mendoza, J. A., Falcón, S. L., Boehringer, S. I., Sánchez, S., y Macías, M. E. F. N. (2018). Autochthonous probiotic mixture improves biometrical parameters of larvae of *Piaractus mesopotamicus* (Caracidae, Characiforme, Teleostei). *Ciência Rural*, 48(7). doi:10.1590/0103-8478cr20170764
- Gutiérrez, M. Y. (2012). *Efecto de la inclusión de probiótico comercial (amino plus) en el alimento extruido sobre el crecimiento del híbrido "pacotana" (piaractus brachypomus x colossoma macropomum), durante la fase juvenil*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Puerto Maldonado, Perú. Recuperado de <http://repositorio.unamad.edu.pe/bitstream/handle/UNAMAD/62/004-2-1-010.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gutiérrez, R. 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 micro encapsulación*. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/52830/1/43607987.2016.pdf>
- Gutiérrez, L. A., David, C. A., Montoya, O. I. y Betancur, E. (2016). Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Revista Salud Animal*. 38(2), pp. 112–119.
- Halver, J.E. y Hardy, R.W. (2002). *Nutrition Fish*. USA, California: Academic Press.
- Halver, J. (1998). *Fish nutrition*. 2 ed. London: Academic Press. 798 p.

- He, S., Liu, W. Zhou, Z., Mao, W., Ren, P., Marubashi, T., y Ringø, E. (2011). Evaluation of probiotic strain *Bacillus subtilis* C-3102 as a feed supplement for koi carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture Research y Development*. 10.4172/2155-9546
- Hernández, M., Castro, G., Castro, T., Garduño, M. y Baltierra, J. L. (2009). Efecto del alimento vivo enriquecido con *Lactobacillus casei* en la sobrevivencia y crecimiento de larvas y juveniles de *Chirostoma estor* (Pisces: Atherinopsidae). *Ciencia Pesquera*, 17(2), pp. 5-12.
- Hernández, R., Fernández y Baptista, M. P. (2014). *Metodología de la Investigación*. (6th ed.). pp.88 – 100. México D. F: Macgraw – Will & Interamericana.
- Hinestroza-Córdova y López-Malo. (2008). Técnicas encapsulación de microorganismos probióticos con polímeros. *Temas selectos de Ingeniería de alimentos*. 2, 28 – 35.
- Hualinga, V. K. K. (2013). *Efecto del probiótico EM®-agua en el crecimiento y composición corporal de alevinos de piaractus brachypomus “paco” (cuvier, 1818) (pisces, serrasalmidae), cultivados en corrales, CICMCR – IIAP – Bello Horizonte, San Martín*. (Tesis de grado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, San Martin – Perú. Recuperado de http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3468/Kenny_Tesis_Titulo_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Hungate, R.E. (1969). *Methods in Microbiology: A roll tube method for cultivation of strict anaerobes*. USA, New York: Academic Press. pp.117-132
- Interagency taxonomic information system. Recuperado [15, 07, 2019], del Sistema Integrado de Información Taxonómica (SIIT) (<http://www.itis.gov>).
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. y Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*. 13(1), 3-13.
- Krasaekoopt, W; Bhandari, B. y Deeth, H. (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*. 14(8), 737-743.
- Ladino, G. y Rodríguez, J. A. (2009). Efecto de *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodospseudomona palustris* (microorganismos eficientes em) y melaza en la ganancia de peso de tilapias (*Oreochromis sp*) en condiciones de laboratorio. *Revista ORINOQUIA*, 13(1), pp. 30-35.

- Lara, M., Escobar, L. y Olvera, M. (2002). *Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (Oreochromis niloticus)*. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, Unidad Mérida. Yucatán, México. pp. 22.
- Lim, C. y Webster, D. C. (2001). *Nutrition fish health*. USA, New York: Food Products Press, Inc.
- Lupo, B., Gonzalez, C. y Maestro, A. (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3(1), pp. 130–151.
- Marín, A., Zaira T. Y., Cortés, R., Misael, Y., Montoya, C. y Olga I. (2009). Evaluación de la viabilidad de crecimiento de la cepa nativa *Lactobacillus plantarum* Lpbm10 y la cepa comercial *Lactobacillus casei* Atcc 393 en pulpa de uchuva y en solución isotónica de glucosa. *Vitae*, 16 (2), 210-217.
- Merrifield, D. L., Bradley, G. y Baker, R. T. M., Dimitroglou, A., Davies, S. J. (2010). Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. *Aquaculture Nutrition*. 16, 504-510.
- Merrifield, D. L. y Rodiles, A. (2015). The fish microbiome and its interactions with mucosal tissues. *Mucosal Health in Aquaculture*. DOI: 10.1016/B978-0-12-417186-2/00010-8
- Ministerio de la Producción (2015). *Anuario Estadístico Pesquero y acuícola*. Lima.
- Ministerio de la Producción (2018). *Especies cultivadas en el Perú*. Despacho viceministerial de Pesquería – Dirección General de Acuicultura. Lima. Recuperado de <http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/boletines/FICHAS%20PRINCIPALES%20ESPECIES.pdf>
- Monroy, D., Castro B., Castro M., Castro M. y Lara A. (2012). Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos acuáticos. *Contactos*. 1 (85), pp. 11-18.
- Muthukumarasamy, P., Allan-Wajtas, P., y Holley, R. (2006). Stability of *L. reuteri* in different types of microcapsules. *Journal of Food Science*. 71 (1), 20-24.

- National Research Council [NRC] (2011). *Nutrient requirements for fish and shrimp Animal Nutrition Series National Research Council of the National Academies*, USA, Washington, DC: The National Academies Press, pp. 376.
- Nayak, S. K. (2010) Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish and Shellfish Immunology*. 29, 2-14.
- Pang, X., Yuan, X. Z., Cao, Z. D., y Fu, S. J. (2013). The effects of temperature and exercise training on swimming performance in juvenile qingbo (*Spinibarbus sinensis*). *Journal of Comparative Physiology*. 183(1),99 – 108. <https://doi-org.uchile.idm.oclc.org/10.1007/s00360-012-0690-7>
- Paschke, K., Agüero, J., Gebauer, P., Diaz, F., Mascaró, M., López-Ripoll, E. y Rosas, C. (2018). Comparison of aerobic scope for metabolic activity in aquatic ectotherms with temperature related metabolic stimulation: A novel approach for aerobic power budget. *Frontiers in Physiology*, 9, 1438. <https://doi-org.uchile.idm.oclc.org/10.3389/fphys.2018.01438>
- Pinto, D., Pellegrin, L., Nitz, L. F., da Costa, S. T., Monserrat, J. M. y Garcia, L. (2019) Haematological and oxidative stress responses in *Piaractus mesopotamicus* under temperature variations in water. *Aquaculture Research*. 50, 3017– 3027. <https://doi-org.uchile.idm.oclc.org/10.1111/are.14260>
- Quispe, G. W. R. (2017). *Aislamiento de Lactobacillus sp. de “trucha arco iris” Oncorhynchus mykiss con potencial probiótico frente a Yersinia ruckeri en Puno*. (Tesis de grado). Universidad Nacional del Altiplano, Puno – Perú. Recuperado de http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/5360/Quispe_Gallegos_Wilson_Reinaldo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Raida, M. K., Larsen, J. L., Nilsen, M. E. y Buchmann, K. (2003). Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BIOPLUS2B). *Journal of Fish Diseases*. 26, 495-498.
- Ramirez, J., Rosas P., Velasquez M., Armando J. y Arce F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 3(7), pp. 1-16.
- Ríos, T. A. D. y Pérez P. F. D. (2012). *Inclusión de residuos de levadura cervecera, Saccharomyces cerevisiae en dietas y su influencia en el crecimiento y composición corporal de juveniles de “gamitana” Colossoma macropomum, cultivados en jaulas*. (Tesis de grado). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Iquitos – Perú.

- Robertson, P. A. W., O'Dowd, C., Burrells, C., Williams, P., Austin, B. (2000). Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Aquaculture*, 185 (2000), pp. 235-243, 10.1016/S0044-8486(99)00349-X
- Rosas-Ledesma, P., León-Rubio, J. M., Alarcón, F. J., Moriñigo, M. A., y Balebona, M. C. (2012). Calcium alginate capsules for oral administration of fish probiotic bacteria: assessment of optimal conditions for encapsulation. *Aquaculture Research*, 43(1), 106–116. doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02809.x
- Saldaña, R. G. B. (2011). *Efecto de dietas con diferentes concentraciones de Lactobacillus sp. enriquecido con proteína hidrolizada de vísceras de Argopecten purpuratus, sobre el crecimiento y supervivencia de alevines de Oreochromis niloticus en laboratorio.* (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.
- Salinas, I., Cuesta, A., Estaban, M. A. y Meseguer, J. (2005). Dietary administration of *Lactobacillus delbrueckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses. *Fish and Shellfish Immunology*. 19, 67-77.
- Satalaya, A. H. (2013). *Efecto del probiótico EM (microorganismos eficientes) sobre el crecimiento de alevinos de “paco”; Piaractus brachypomus (cuvier, 1818) confinados en jaulas durante la segunda fase de alevinaje en Padre Abad- Perú.* (Tesis de grado). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, San Martín – Perú. Recuperado de <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2426/Efecto%20del%20probi%3b%20EM%20%28microorganismos%20eficientes%29%20sobre%20el%20crecimiento%20de%20alevinos%20de%20paco%2c%20Piaractus%20brachypomus.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sedano, J., (2006). *Selección de cepas nativas de Lactobacillus con actividad inhibitoria y tolerantes al etanol asiladas del masato.* (Tesis de grado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Recuperado de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1424>
- Simó, G., Fernández-Fernández, E., Vila-Crespo, J., Ruipérez, V. y Rodríguez-Nogales, J. M. (2017) Research progress in coating techniques of alginate gel polymer for cell encapsulation. *Carbohydrate Polymers*. 170, 1-14.
- Sun, Y. Z., Yang, H. L., Ma, R. L. y Lin, W. Y. (2010) Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish and Shellfish Immunology*. 29, 803-809.

- Tueros, T. G. B. (2018). *Comportamiento productivo y composición lipídica del “paco” (piaractus brachypomus) alimentado con diferentes relaciones de ácidos grasos omega 6 a 3*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3606/tueros-tellez-gerald-brian.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Valencia, G. J. G. (2017). *Comparación de densidades de cultivo de “Paco” piaractus brachypomus utilizando el suplemento probiótico e-m, IIAP sede Ucayali-Perú*. (Tesis de grado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú. Recuperado de <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9036>
- Vargas, T. A. R. (2009). *Tres dosis de probiótico y tres densidades de cultivo sobre el rendimiento productivo de “gamitana” (colossoma macropomun) en fase de crecimiento en el distrito de río negro*. (Tesis de grado). Universidad Nacional del Centro del Perú, Satipo – Perú. Recuperado de <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/1928>
- Vásquez-Torres, W., Pereira-Filho, M. y Arias-Castellanos, J. (2011) Optimum dietary crude protein requirement for juvenile cachama *Piaractus brachypomus*. *Ciencia Rural*. 41, 2183–2189.
- Vázquez, S. M., Suárez, H. y Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*. 36(1), pp. 64-71.
- Verján, N, Iregui, C. A., Rey, A. L. y Eslava, P. R. (2001). Estudio de brotes de enfermedad en la cachama blanca *Piaractus brachypomus*: diagnóstico y caracterización. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 48(1): pp. 48-56
- Vivolac. Recuperado [08,09,2019] de la página web www.vivolac.com (<http://vivolac.com/wp-content/uploads/2014/08/ABY-0215.pdf>)
- Wilson, R. P. y Halver, J. E. (2002). Fish protein and amino acid requirements. *Annual Review of Nutrition*., 6, pp. 225–244
- Xu, Z., Takizawa, F., Parra, D., Gómez, D., Von Gersdorff Jørgensen, L., Lapatra, S. E., y Sunyer, J. O. (2016). Mucosal immunoglobulins at respiratory surfaces mark an ancient association that predates the emergence of tetrapods. *Nature Communications*. 7, 10728.

TERMINOLOGÍA

Acuicultura. Abarca todas las actividades dirigidas a la producción y comercialización de organismos acuáticos como peces, moluscos, crustáceos y plantas acuáticas (Lim y Webster, 2001).

Ad libitum. Expresión del latín que significa a saciedad, denota el libre acceso de un animal al alimento donde el consumo está regulado según sus necesidades biológicas (Halver y Hardy, 2002).

Alevino. Cría de pez que incluye la fase comprendida entre la larva y el juvenil (Campos, 2015).

Antagonismo. Interacción entre organismos o sustancias que causa la pérdida de actividad de uno de ellos (Grosell *et al.*, 2010).

Antibióticos. Son las drogas de origen natural o sintético que tienen la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de microorganismos (Lim y Webster, 2001).

Anticuerpo. Proteína producida por los linfocitos de la sangre como respuesta a la presencia de un antígeno en el organismo (Lim y Webster, 2001).

Cepa. Variante fenotípica de una especie (Grosell *et al.*, 2010).

Colonización. Capacidad de las bacterias para establecerse y multiplicarse en la piel y/o mucosas del huésped en cantidades suficientes que permitan mantener un cierto número poblacional; sin que su presencia determine respuestas clínicas ni inmunológicas (Grosell *et al.*, 2010).

Composición proximal. Incluye un análisis de la humedad, proteínas, lípidos, cenizas, fibra y carbohidratos que permiten determinar el valor nutritivo y/o calórico de los alimentos (Halver y Hardy, 2002).

Digestión. Es el proceso de transformación de los alimentos previamente ingeridos en sustancias más sencillas para ser absorbidos (Halver y Hardy, 2002).

Dosis probiótica. Se puede definir como la concentración de microorganismos probióticos (en número de células/ml probiótico) que está disponible para el organismo acuático (Grosell *et al.*, 2010).

Efecto bactericida. Proceso causante de la eliminación de bacterias (manifestación – consecuencia – de agentes causantes de eliminación de bacterias) (Lim y Webster, 2001).

Efecto bacteriostático. Proceso causante de la inhibición de crecimiento bacteriano (manifestación – consecuencia – de agentes causantes la inhibición del crecimiento bacteriano) (Lim y Webster, 2001).

Estadio. Estado diferenciado en el proceso o desarrollo de un organismo (Halver y Hardy, 2002).

Estanque. Depósito construido para recoger agua para la cría de peces (Campos, 2015).

Ganancia de peso. Se refiere a la ganancia de peso obtenido por un individuo en un determinado periodo de tiempo (Halver y Hardy, 2002).

Incremento de longitud. Es el aumento de longitud durante el periodo experimental (Halver y Hardy, 2002).

Ingestión. proceso por el cual los alimentos son incorporados al organismo, mediante estructuras especializadas como los tentáculos en los pulpos, las mandíbulas en los insectos, el pico en las aves y la boca en los mamíferos (Halver y Hardy, 2002).

Juvenil. Estadio del pez que no alcanza la madurez sexual (Campos, 2015).

Lactobacilos. bacteria del ácido láctico, es un género de bacterias Gram positivas anaerobios Aero tolerantes, denominados así debido a que la mayoría de sus miembros convierte la lactosa y otros monosacáridos en ácido láctico (Grosell *et al.*, 2010).

Longitud total. Extensión que comprende la medida desde la boca hasta el final de la cola del pez (Halver y Hardy, 2002).

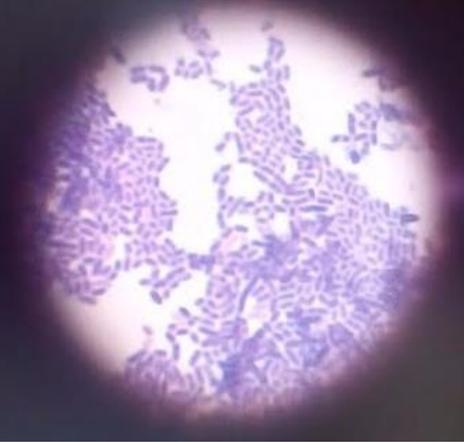
Microbiota. Se refiere a la comunidad de microorganismos vivos residentes en el intestino (Grosell *et al.*, 2010).

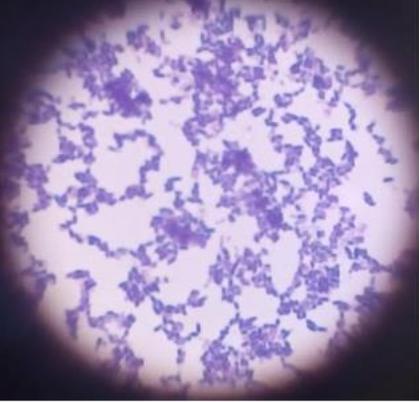
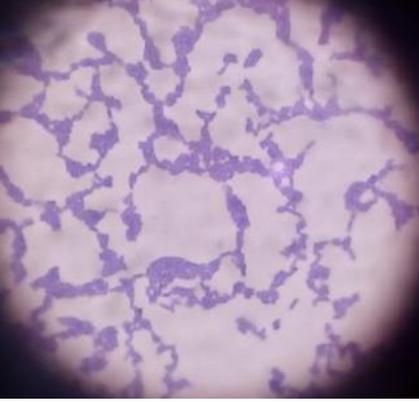
Parámetros biométricos: medidas o datos biológicos que se toman de un individuo para realizar un análisis particular (Halver y Hardy, 2002).

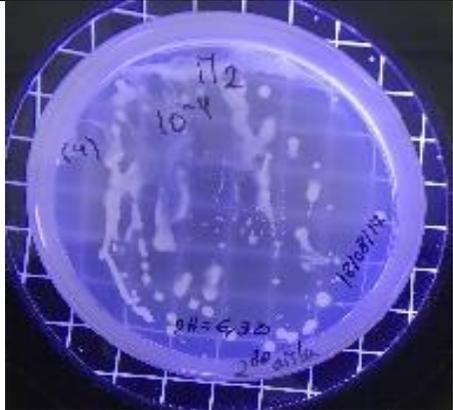
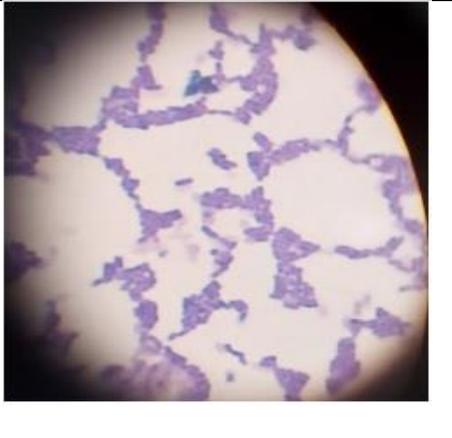
Peso húmedo. Peso de una muestra, incluido el del agua que contiene (Halver y Hardy, 2002).

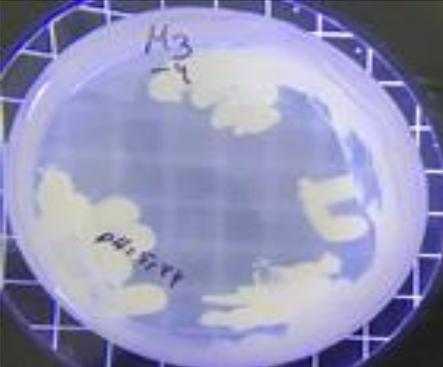
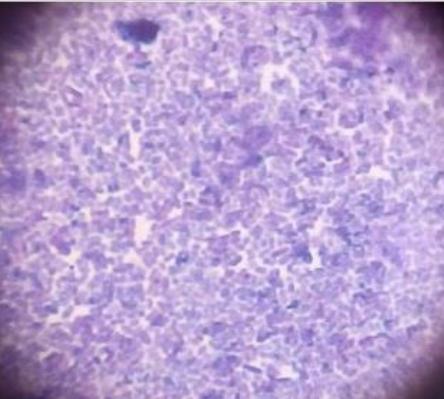
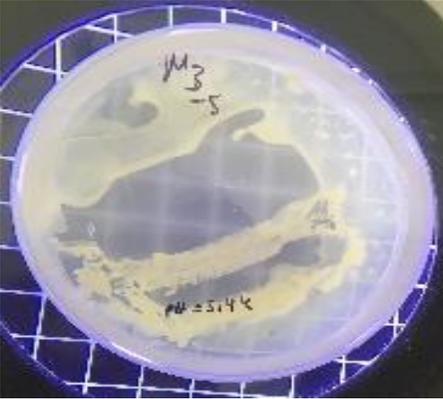
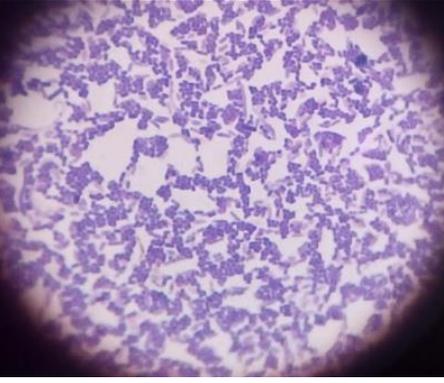
APÉNDICES

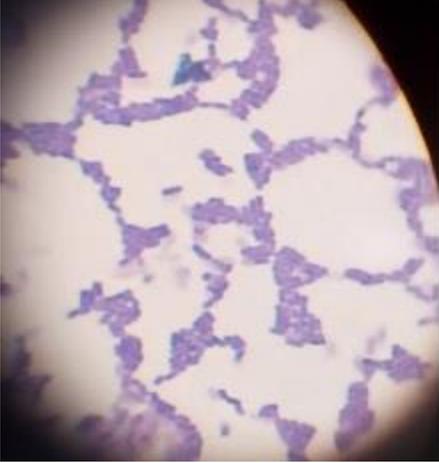
Apéndice 1. Características microbiológicas de las placas seleccionadas mediante pruebas bioquímicas primarias evaluadas en las muestras de masato

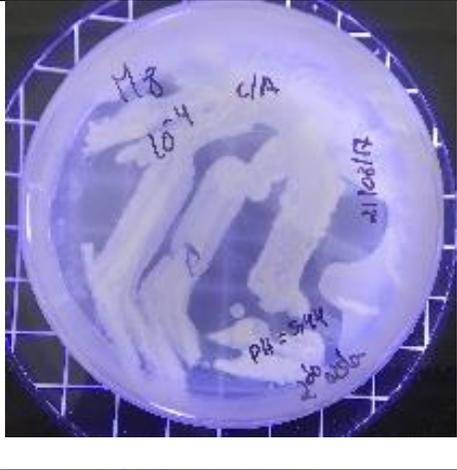
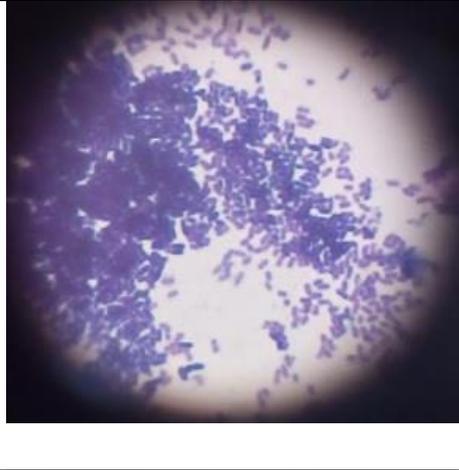
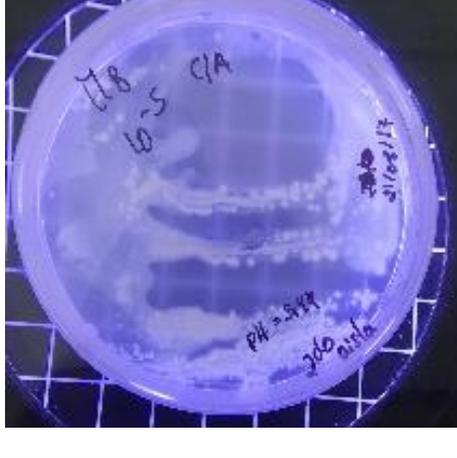
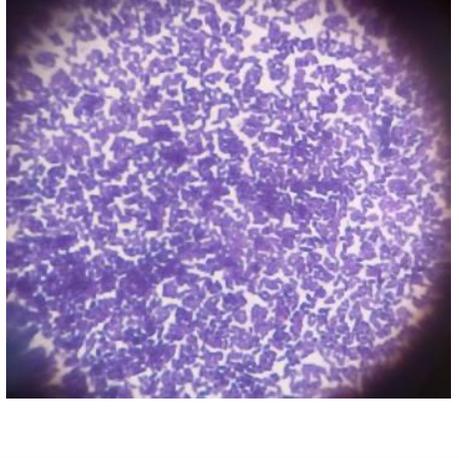
Muestra	Morfología de la colonia	Tinción Gram	Catalasa	Oxidasa	Endosporas
<p>2M0⁻³ 1 S/A</p>	 <p>Colonias con forma fusiforme e irregular, también se observan colonias muy pequeñas; con borde ondulado; de color blanco y consistencia cremosa</p>		NEGATIVO	NEGATIVO	AUSENCIA

<p>2M0⁻⁵ 1</p>		<p>Colonias con forma fusiforme e irregular; con borde ondulado; de color blanco y consistencia cremosa y ligeramente seca.</p>		<p>NEGATIVO</p>	<p>NEGATIVO</p>	<p>AUSENCIA</p>
<p>2M0⁻⁶ 1</p>		<p>Colonias con forma irregular, también se observan colonias muy pequeñas; con borde ondulado; de color blanco y consistencia cremosa.</p>		<p>NEGATIVO</p>	<p>NEGATIVO</p>	<p>AUSENCIA</p>

2M2 ⁻⁴ 1		<p>Colonias con forma totalmente irregular; con borde lobulado; de color blanco y consistencia entre cremosa y líquida.</p>		NEGATIVO	NEGATIVO	AUSENCIA
2M2 ⁻⁶ 1		<p>Colonias con forma fusiforme, irregular y circular; con borde ondulado y redondeado; de color blanco y consistencia cremosa.</p>	<p>NO SE REGISTRÓ IMAGEN</p>	NEGATIVO	NEGATIVO	AUSENCIA

2M3 ⁴ 1		<p>Colonias con forma irregular; con borde ondulado; de color blanco y consistencia cremosa.</p>		NEGATIVO	NEGATIVO	AUSENCIA
2M3 ⁵ 1		<p>Colonias con forma irregular; con borde ondulado; de color blanco y consistencia membranosa.</p>		NEGATIVO	NEGATIVO	AUSENCIA

2M4 ⁻⁴ 1		<p>Colonias con forma irregular; con borde ondulado; de color blanco y consistencia membranosa.</p>		NEGATIVO	NEGATIVO	AUSENCIA
2M7 ⁻³ 1		<p>Colonias con forma irregular; con borde ondulado; de color blanco y consistencia membranosa.</p>		NEGATIVO	NEGATIVO	AUSENCIA

<p>2M8⁴ 1</p> <p>C/A</p>		<p>Colonias con forma irregular; con borde ondulado; de color blanco y consistencia membranosa.</p>		<p>NEGATIVO</p>	<p>NEGATIVO</p>	<p>AUSENCIA</p>
<p>2M8⁵ 1</p> <p>C/A</p>		<p>Colonias con forma irregular; con borde ondulado; de color blanco y consistencia membranosa.</p>		<p>NEGATIVO</p>	<p>NEGATIVO</p>	<p>AUSENCIA</p>

Apéndice 2. Proceso de encapsulación del cultivo microbiano.

1. Preparación del cultivo microbiano



2. Proceso de centrifugación



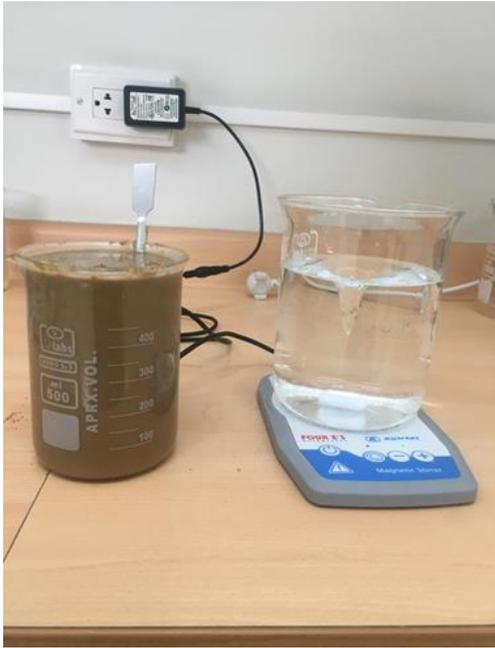
3. Mezcla con alginato



4. Caída por goteo en cloruro de calcio



5. Mezcla con el alimento concentrado



6. Formación de la cápsulas



7. Forma de almacenamiento

