

Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Maurilio Lara Flores, Laura Escobar Briones, Miguel A. Olvera Novoa

Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, Unidad Mérida
Apdo. Postal 73-Cordemex, C.P. 97310. Mérida, Yucatán, México.
Email: molvera@kin.mda.cinvestav.mx Fax: 542 999 9812334

RESUMEN

Se presentan los resultados de tres estudios en los cuales se prepararon dietas suplementadas con diferentes probióticos comerciales como promotores de crecimiento. El primero consistió en administrar a crías de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) dietas suplementadas con un probiótico comercial que contenía una mezcla bacteriana (*Streptococcus faecium* y *Lactobacillus acidophilus*) y compararlo contra una dieta convencional y una suplementada con un antibiótico (Terramicina). En este estudio se observaron crecimientos superiores a los obtenidos con las otras dos dietas, presentándose el probiótico como una opción de promotor de crecimiento viable. En base a los resultados obtenidos se desarrolló un segundo estudio en el cual se probaron dos tipos de probióticos comerciales (la mezcla bacteriana y la levadura *Sacharomyces cerevisiae*) suplementados en dietas con bajo contenido proteico y suministrándose las dietas a cultivos experimentales de crías de tilapia nilótica con alta densidad como factores de estrés. Los resultados indicaron que las crías alimentadas con dietas suplementadas con probióticos mostraron mayor crecimiento y que las dietas suplementadas con levadura presentaron el mejor crecimiento y eficiencia alimenticia sugiriendo que la levadura es un aditivo apropiado para estimular el crecimiento en tilapia. El tercer estudio se realizó para observar si existía un nivel óptimo de adición de la levadura y si había un efecto entre adicionarla activada o no activada. Se observó que no hubo diferencias entre el nivel de inclusión y la forma de adicionar la levadura. También se determinó que si los organismos no se encuentran en condiciones de estrés no se presenta el efecto probiótico.

Palabras clave: Probióticos, tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Sacharomyces*

INTRODUCCIÓN

La acuicultura ha tenido en los últimos años adelantos significativos en cuanto a la producción de una amplia variedad de organismos que proporcionen proteína de origen animal. Una de las especies dulceacuícolas más exitosa en acuicultura es la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). Esta especie, a nivel comercial, se cultiva en sistemas intensivos y semiintensivos, donde los requerimientos nutrimentales son satisfechos mediante dietas artificiales completas. Debido a las condiciones de cultivo, como son altas densidades de siembra y limitada calidad del agua, los organismos se encuentran sujetos a un estrés constante que se traduce en bajas tasas de crecimiento y eficiencia alimenticia, así como presencia de enfermedades oportunistas.

Para sobrellevar estos problemas se ha estudiado alternativamente el uso de suplementos alimenticios que eviten la aparición de enfermedades y operan como promotores de crecimiento entre los cuales se encuentran las hormonas, antibióticos, iónoferos y algunas sales, pero su uso indiscriminado puede ocasionar efectos adversos al animal (alteraciones hormonales, intoxicación, predisposición a enfermedades) y residuales para el consumidor final.

Para evitar estos problemas los estudios se han dirigido a identificar nuevos aditivos como lo son los microorganismos a los que se les ha llamado probióticos, los cuales presentan un opción para mejorar la salud y el crecimiento de los organismos, dando por resultado una mayor producción.

El concepto probiótico nació a partir de las observaciones de Metchnikoff en 1907 y los estudios de exclusión competitiva llevados a cabo por Nurmi & Rantala en 1973. Estas observaciones se basaron en las variaciones de la flora intestinal ocasionadas por factores de estrés como la temperatura, densidad de población, la alimentación artificial y el manejo, lo cual se refleja en pérdida de apetito, enfermedades y bajo crecimiento (Fox, 1988; Fuller, 1989; 1992).

Basados en estas ventajas, se ha realizado el estudio de la inclusión de probióticos en dietas artificiales para conocer sus efectos en crecimiento y aprovechamiento del alimento en crías de tilapia nilótica en sistemas experimentales de cultivo. En este documento se reportan los resultados de tres estudios realizados para conocer los efectos de diferentes probióticos sobre el crecimiento y aprovechamiento del alimento en crías de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

ESTUDIO 1. COMPARACIÓN DEL EFECTO DE UN PROMOTOR DE CRECIMIENTO CONVENCIONAL Y UN PROBIÓTICO COMERCIAL

Introducción

Se utilizaron crías de tilapia nilótica de tres semanas de edad (peso promedio 181 ± 4 mg) pertenecientes al mismo cardumen. El experimento se realizó en un sistema de camas de agua con recirculación, el cual constaba de tres tinas de fibra de vidrio de 1 m^2 . En cada tina se colocaron cuatro peceras de vidrio rectangulares de 10 litros de capacidad. La temperatura se mantuvo constante en todas las peceras por medio de las camas de agua en las cuales se controló la temperatura a 28°C por medio de un calentador de titanio con termostato automático. El oxígeno disuelto se mantuvo a una concentración de 5.6 ± 1 mg/l por medio de piedras difusoras.

Se elaboraron tres dietas isocalóricas e isoproteicas con 40% de proteína y 10% de lípidos. A una de las dietas no se le adicionó ningún tipo de aditivo para que funcionará como dieta control (TC), a otra se le adicionó 0.1% de terramicina como promotor de crecimiento convencional y a la última dieta se le añadió 0.1% de una mezcla probiótica comercial (All-lac[®]) a base de *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus faecium* (10^8 UFC/g). Tanto el antibiótico como el probiótico fueron disueltos previamente en 30 ml de agua destilada estéril para su incorporación a la dieta (Tabla 1). Una semana antes de la experimentación los peces fueron colocados en cada pecera en grupos de 10 para aclimatarlos al sistema suministrándoles una dieta convencional.

Una vez terminado el período de aclimatación las dietas experimentales se distribuyeron de manera aleatoria entre los acuarios con tres réplicas para cada una, y se suministraron *ad libitum* tres veces al día durante siete semanas. Cada semana se realizaron biometrías para determinar la supervivencia y calcular la ganancia de peso de los organismos. El procedimiento consistió en extraer a los peces por medio de una red previamente desinfectada, se secaron los peces pasando la red sobre toallas de papel para eliminar el exceso de humedad y se pesaron en grupo en una balanza granataria electrónica. Cada tercer día se realizó un recambio parcial del agua de cada pecera (3 l) y cada semana se limpiaron y se hizo un cambio total del agua. Los resultados se compararon mediante un ANOVA de una vía y las diferencias entre las medias se identificaron aplicando el método de rangos múltiples de Duncan.

Tabla 1. Formulación y composición proximal de las dietas experimentales.

Ingredientes (%)	Dietas		
	TC	TA	TP
Harina de pescado	54.23	54.23	54.23
Aceite de soya	3.26	3.26	3.26
Almidón de maíz	34.50	34.40	34.40
Premezcla de minerales ¹	1.50	1.50	1.50
Premezcla de vitaminas ²	3.00	3.00	3.00
Probiótico	0.00	0.00	0.10
Terramicina	0.00	0.10	0.00
Composición proximal (% en base húmeda)			
Humedad	7.30	6.63	6.48
Proteína cruda	39.56	39.92	37.91
Fibra cruda	1.54	1.74	1.72
Extracto etéreo	8.02	8.04	7.47
Cenizas	9.55	10.14	9.77
E.L.N.	34.03	33.53	36.55
Energía bruta (Kcal./100g)	399.54	401.25	403.12

¹Jauncey y Ross, 1982²Tacon, 1984

Resultados

Los organismos alimentados con la dieta con probióticos y antibiótico presentaron la mejor supervivencia, sin presentar diferencias entre si ($P>0.05$) pero si con el control ($P<0.05$) el cual presentó la menor supervivencia (Tabla 2).

El tratamiento con probiótico presentó la mayor ganancia de peso con diferencias estadísticas con los demás tratamientos ($P<0.05$), los cuales no fueron significativamente diferentes ($P>0.05$). Los organismos alimentados con la dieta control y con antibiótico presentaron la tasa específica de crecimiento (TEC) más baja sin presentar diferencias estadísticas entre si ($P>0.05$). Por otro lado el tratamiento con probiótico presentó la TEC más alta con diferencia significativa a los demás tratamientos ($P<0.05$). El menor consumo de alimento se presentó en la dieta con probiótico, presentando diferencias significativas con los demás tratamientos ($P<0.05$). En cuanto al aprovechamiento del alimento el tratamiento, el tratamiento con probiótico presentó la menor tasa de conversión alimenticia (TCA) con respecto a los demás tratamientos.

Tabla 2. Crecimiento y aprovechamiento del alimento de la tilapia nilótica¹

	Dietas			±E.E.
	TC	TA	TP	
Supervivencia	70.00 ^b	90.00 ^a	100.00 ^a	15.27
Peso inicial promedio (mg)	183.15 ^a	182.73 ^a	183.27 ^a	0.28
Peso final promedio (mg)	28200.00 ^{ab}	26933.33 ^{ab}	33733.33 ^a	3616.22
Peso ganado individual (mg/día)	500.12 ^b	477.69 ^b	599.11 ^a	64.61
TEC (%/ día)	8.90 ^b	8.95 ^b	9.31 ^a	0.22
Alimento consumido individual (mg/día)	1061.36 ^b	1072.60 ^b	1011.86 ^a	32.32
Tasa de conversión alimenticia	2.12 ^b	2.25 ^b	1.69 ^a	0.29

¹Valores con el mismo superíndice son iguales estadísticamente ($P>0.05$)

En este estudio se observó que el probiótico funcionó adecuadamente como promotor de crecimiento, con resultados superiores a los obtenidos con la dieta suplementada con antibiótico y el control. Con base a estos resultados se planteó un estudio en el cual se evaluara el probiótico sometiendo a la tilapia a factores de estrés, basándose que en animales terrestres, el probiótico es utilizado para minimizar los efectos del estrés.

ESTUDIO 2. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE UNA MEZCLA PROBIÓTICA (*STREPTOCOCCUS FAECIUM* Y *LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS*) Y UNA LEVADURA (*SACCHAROMYCES CEREVISAE*, SC 47) EN DIETAS PARA TILAPIA NILÓTICA SOMETIDA A ESTRÉS

Introducción

El experimento tuvo una duración de nueve semanas utilizando crías de tilapia nilótica (*O. niloticus*, 152.3 mg de peso promedio), obtenidos en el laboratorio de Acuicultura del CINVESTAV-IPN, Unidad Mérida. El experimento se realizó en un sistema cerrado con recirculación de agua formado por 40 tinas plásticas de 20 l, tanque de sedimentación, filtro biológico y un filtro de luz ultravioleta para prevenir la contaminación de microorganismos entre los tratamientos. El sistema fue instalado en un laboratorio con ambiente controlado con una temperatura de 22°C, foto periodo de 12 horas luz y 12 oscuridad. El agua en el sistema fue mantenida a una temperatura de 28°C con dos calentadores de titanio de 2000 watts y el nivel de oxígeno disuelto fue controlado regulando el flujo del agua de cada tanque a 1l/min. Para controlar la calidad del agua se tomaron diariamente mediciones de temperatura y oxígeno disuelto y semanalmente se analizó el contenido de amonio, nitritos, nitratos y niveles de pH con técnicas estandarizadas (APHA, 1985), con los siguientes valores (± S.D.): temperatura, 27.83±0.45°C; oxígeno disuelto, 6.17±1.64 mg l⁻¹; pH, 8.46±0.32; amonio, 0.07±0.02 mg l⁻¹, nitritos, 0.07±0.03 mg l⁻¹; nitratos, 5.93±0.61 mg l⁻¹, los cuales son apropiados para el cultivo de la tilapia.

Se formularon cinco dietas isocalóricas: tres conteniendo 40% de proteína y dos con 27% de proteína. Las dietas con proteína baja fueron usadas como factor de estrés ya que en esta etapa de crecimiento el nivel óptimo de proteína para tilapia es de 40% (Tacon, 1984). Uno de los tratamientos consistió en la suplementación de un probiótico comercial para animales

terrestres compuesto por *Streptococcus faecium* y *Lactobacillus acidophilus* (ALL-LAC™, All Tech, Nicholasville, KY) adicionado a una de las dietas con 40% de proteína (ALL 40) y a una de 27% de proteína (ALL 27). En otro tratamiento, la levadura (*Sacharomyces cerevisiae*, BIOSAF™, Saf Agri, Miniápolis, MN) fue adicionada a una dieta con 40% (Y 40) y otra con 27% (Y 27). Finalmente se incluyó una dieta control con 40% de proteína y sin ningún suplemento (CON 40). A todas las dietas se les adicionó 0.5% de óxido de cromo como marcador para determinar la digestibilidad (Tabla 3).

Tabla 3. Formulación y composición proximal de las dietas experimentales

Ingredientes %	Dietas				
	CON 40	ALL 40*	Y 40*	ALL 27	Y 27
Harina de pescado	54.23	54.23	54.23	36.60	36.60
Aceite de pescado	0.00	0.00	0.00	1.85	1.85
Aceite de soya	3.26	3.26	3.26	6.40	6.40
Premezcla de minerales ²	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Premezcla de vitaminas ²	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Carboximetil celulosa	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Oxido de cromo	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Probiótico	0.00	0.10	0.10	0.10	0.10
Composición (% base húmeda)					
Humedad	7.30	6.63	6.48	7.27	7.43
Proteína cruda	39.56	39.92	37.91	25.84	26.49
Fibra cruda	1.54	1.74	1.72	3.66	4.03
Extracto etéreo	8.02	8.04	7.47	9.53	9.69
Cenizas	9.55	10.14	9.77	9.17	9.32
E. L. N.	34.03	33.53	36.55	44.53	43.04
Energía bruta (Kcal./100g)	476.76	471.95	479.94	473.79	475.93

¹Jauncey y Ross, 1982; ²Tacon, 1984

* ALL=mezcla probiótica; **Y= Levadura

La densidad de población en los tanques fue usada también como factor de estrés, asumiendo que la sobrepoblación es uno de los principales factores que inhibe el crecimiento en sistemas de cultivo. Para este fin, 20 tanques se sembraron con 10 organismos (1organismo/ l) y otros 20 tanques con 20 organismos (2 organismos/l), todos con peso promedio similares. Las dietas fueron asignadas aleatoriamente a cada uno de los tanques con las diferentes densidades de tal forma que para cada nivel de proteína hubiera 4 réplicas de cada densidad. Los animales fueron adaptados al sistema experimental por una semana, durante este período se les suministroo una dieta convencional.

La alimentación fue administrada manualmente *ad libitum* cuatro veces al día durante nueve semanas. Se registro el alimento consumido diario. Se realizaron biometrías semanales para conocer el crecimiento en peso, calcular la supervivencia y ajustar la ración de alimento. Para la biometría los organismos eran extraídos de los tanques con red previamente desinfectada en una solución de cloruro de benzalconio al 1%. Se secaron los peces sobre toallas de papel para eliminar el exceso de humedad y se pesaron en una balanza granataria electrónica. Cada tercer día, se realizó un cambio parcial del agua de cada tanque y una vez por semana se realizó una limpieza del sistema y el recambio total

del agua. A partir de la tercera semana de alimentación se inicio la colecta de heces por medio de sifoneo 30 minutos después de la segunda alimentación. Las heces colectadas fueron limpiadas y secadas en una estufa a 105° C por 24 horas, y almacenadas en contenedores herméticos en refrigeración hasta su análisis.

Se realizaron análisis químicos proximales a los ingredientes, las dietas y a una muestra de peces al inicio y final del experimento siguiendo métodos estándar (AOAC, 1990). La energía bruta del alimento fue determinada por combustión en un calorímetro adiabático Parr. Para evaluar la digestibilidad, se determinó el contenido de oxido de cromo en las dietas y en las heces usando el método de digestión ácida (Furukawa & Tsukahara, 1966). El contenido de proteína fue también determinado en las heces para evaluar la digestibilidad de la proteína.

Resultados

De las cinco dietas experimentales en las dos densidades, la dieta con 40% de proteína suplementada con la levadura y administrada a baja densidad (Y40/10) produjo la mejor tasa de crecimiento, y todas las dietas suplementadas con levadura mostraron mejores resultados que aquellas con mezcla microbiana y el control, pero ALL27/10 y ALL27/20 mostraron respuesta similar a Y20/20. ALL40/10 y ALL40/20 junto con CON40/10 y CON40/20 resultaron con el menor crecimiento.

Como se observa en la Tabla 4, los peces alimentados con las dietas CON40/10 y CON40/20 resultaron con la menor supervivencia, con valores significativamente diferentes a los obtenidos con las dietas suplementadas con probióticos ($P<0.05$). La adición de levadura a la dieta con contenido óptimo de proteína (40%) administrada a tanques con baja densidad (Y49/19) dio lugar a crecimiento (Peso Ganado Individual, PGI; Tasa Específica de Crecimiento, TEC) significativamente mayor a los demás tratamientos ($P<0.05$), mientras que las dietas suplementadas con probióticos resultaron con PGI y TEC significativamente mayores que las dietas control ($P<0.05$).

El tratamiento ALL40/10 resultó con la tasa de conversión alimenticia más alta entre las dietas suplementadas con probióticos, pero los peces que recibieron estas dietas tuvieron tasa de conversión alimenticia significativamente más bajas que el control ($P<0.05$). La mejor tasa de conversión alimenticia fue registrada con las dietas Y40/20, Y40/10, Y27/20 y ALL27/20. En general, los peces alimentados con las dietas suplementadas con la levadura mostraron mejor eficiencia alimenticia que los alimentadas con las dietas con mezcla bacteriana.

La Tasa de Eficiencia Proteica (PER) fue significativamente mayor en los tratamientos que contenían 27% de proteína suplementada con probióticos y administrada a densidades altas (Y27/20 y ALL27/20) comparados con los demás tratamientos (Tabla 4). La menor PER se registró en los tratamientos ALL40/10 y control. Para estos mismos peces la Utilización Aparente de Nitrógeno (UAN) fue significativamente mayor en comparación con los otros tratamientos. El menor valor biológico fue observado con las dietas control con resultados

significativamente menores que los obtenidos con las demás dietas incluyendo las que contenían probiótico.

En general, los valores de Digestibilidad Aparente de Materia Orgánica (DAMO) y de Digestibilidad Aparente de Proteína (DAP) fueron variables entre los tratamientos. El máximo valor fue observado en el tratamiento ALL27/10, sin embargo, no fue estadísticamente diferente de los tratamientos ALL27/10, Y40/10 y Y40/20. En contraste, los resultados de digestibilidad para las dietas control fueron menores que las dietas suplementadas con probiótico, pero DAP para la menor densidad (CON40/10) mostró mejores resultados que CON40/20 sugiriendo un efecto adverso de la alta densidad en la eficiencia de la digestibilidad.

No se observaron diferencias estadísticas en el contenido de humedad en el cuerpo de los organismos al final del experimento (Tabla 5). En cuanto al contenido de proteína de los organismos se observaron los valores significativamente más altos en los animales alimentados con las dietas ALL40/20 y Y40/20, en comparación a los obtenidos con los tratamientos ALL27/20, Y27/20 y Y27/10. La proteína en el cuerpo estuvo claramente relacionada con la proteína en la dieta, con los menores niveles en los peces alimentados con las dietas con 27% de proteína. El contenido de lípidos en el cuerpo fue afectado también por el contenido proteico, de las dietas con los valores más altos en los tratamientos con 27% de proteína, los cuales fueron estadísticamente diferentes de los tratamientos con 40% de proteína. El menor contenido de lípidos fue registrado para el tratamiento CON40/10 el cual fue estadísticamente diferentes a los demás tratamientos.

Con los resultados anteriores se puede concluir que la adición de 0.1% de probióticos en dietas para crías de tilapia mejora el crecimiento del animal y mitiga los efectos de los factores de estrés. Las dos cepas bacterianas utilizadas en este estudio fueron efectivas para estimular el aprovechamiento del alimento por los peces, sin embargo, la levadura produjo mejores resultados, manifestándose como la mejor opción para optimizar el crecimiento y utilización del alimento en cultivos intensivos de tilapia. Este estudio demostró que la utilización del alimento fue mayor en las crías de tilapia alimentadas con dietas suplementadas con levadura, ocasionando que los nutrientes fueran usados más eficientemente para crecimiento y energía. Basados en este estudio se diseñó un experimento para determinar la concentración y forma en la cual tenía que administrarse la levadura para obtener los mejores resultados.

Tabla 4. Resultados de crecimiento y aprovechamiento del alimento de los peces alimentados con dietas suplementadas con probióticos.

	Dietas										± E.E ²
	CON40/10	CON40/20	Y40/10	Y40/20	Y27/10	Y27/20	ALL40/10	ALL40/20	ALL27/10	ALL27/20	
Supervivencia (%)	75.00 ^{ab}	64.81 ^a	87.50 ^{bc}	92.59 ^c	91.67 ^{bc}	96.29 ^c	91.67 ^{bc}	85.18 ^{bc}	95.83 ^c	85.18 ^{bc}	5.163
Peso inicial promedio (g)	0.156 ^a	0.152 ^a	0.154 ^a	0.150 ^a	0.156 ^a	0.149 ^a	0.151 ^a	0.148 ^a	0.153 ^a	0.156 ^a	
Peso final promedio (g)	1.285 ^a	1.439 ^a	6.164 ^d	4.570 ^{bc}	4.831 ^c	4.026 ^{bc}	1.910 ^a	2.081 ^a	4.145 ^{bc}	3.826 ^c	0.264
TEC (%/día)	3.33 ^a	3.57 ^a	5.80 ^d	5.43 ^c	5.46 ^{cd}	5.24 ^c	4.03 ^b	4.19 ^b	5.23 ^c	5.10 ^c	0.119
TCA	3.113 ^c	3.260 ^e	1.430 ^{abc}	1.010 ^a	1.620 ^{bc}	1.170 ^{ab}	4.130 ^f	2.220 ^d	1.620 ^{bc}	1.170 ^{ab}	0.153
PER	0.830 ^{ab}	0.780 ^{ab}	1.890 ^c	2.640 ^d	2.260 ^c	3.170 ^c	0.610 ^a	1.140 ^b	2.230 ^c	3.380 ^e	0.121
RNC	0.442 ^a	0.482 ^a	1.902 ^c	2.402 ^d	2.227 ^{cd}	3.150 ^c	0.565 ^a	1.035 ^b	2.422 ^d	3.472 ^c	0.136
UAN (%)	13.58 ^a	12.44 ^a	30.35 ^c	42.70 ^d	32.95 ^c	47.30 ^d	9.62 ^a	19.27 ^b	32.95 ^c	47.51 ^d	1.843

*Valores con el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes (p>0.05)

Tabla 5. Composición proximal del cuerpo de los peces alimentados con dietas suplementadas con prebióticos

Composición (%)	Dietas										
	Inicial	CON40/10	CON40/20	Y40/10	Y40/20	Y27/10	Y27/20	ALL40/10	ALL40/20	ALL27/10	ALL27/20
Humedad	81.09	73.36 ^a	74.36 ^a	73.40 ^a	73.09 ^a	73.46 ^a	74.10 ^a	73.85 ^a	73.19 ^a	73.70 ^a	73.90 ^a
Proteína cruda	11.80	15.61 ^{bc}	15.72 ^{bc}	15.83 ^{bc}	16.22 ^c	14.72 ^{ab}	14.55 ^{ab}	15.39 ^{bc}	16.39 ^c	15.50 ^{bc}	13.77 ^a
Lípidos	3.06	5.64 ^a	7.76 ^{bc}	8.37 ^c	7.03 ^b	10.25 ^d	9.86 ^d	7.84 ^{bc}	7.32 ^{bc}	9.50 ^d	10.21 ^d
Cenizas	2.46	3.49 ^a	3.76 ^{cd}	3.56 ^b	3.54 ^a	3.72 ^c	3.81 ^d	3.73 ^c	3.55 ^{ab}	3.52 ^a	3.85 ^d

*Valores con el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes (p>0.05)

ESTUDIO 3. NIVEL ÓPTIMO DE INCLUSIÓN DE UNA LEVADURA PROBIÓTICA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, SC 47) COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO PARA TILAPIA NILÓTICA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

Introducción

En este experimento se probó por 10 semanas la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como promotor de crecimiento en crías de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). El estudio se llevó a cabo en un sistema de cerrado semejante al descrito en el estudio anterior, integrado por 44 tinas de plástico de 20 l y drenaje central. Se utilizó un filtro de luz ultravioleta para impedir contaminación microbiana entre los diferentes tratamientos. Las condiciones del sistema y del laboratorio fueron las mismas señaladas para el estudio 2.

Se elaboraron 11 dietas isoproteicas (40% de proteína), isolipídicas (12% de grasa) e isocalóricas (420 Kcal/100g) a base de harina de pescado como fuente proteica. Se probaron cinco concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*): 0.03% (3×10^7 Unidades Formadoras de Colonias, UFC g^{-1} alimento), 0.07% (7×10^7 UFC g^{-1}), 0.1% (1×10^8 UFC g^{-1}), 0.15% (1.5×10^8 UFC g^{-1}) y 0.2% (2×10^8 UFC g^{-1}). Para cada concentración se incluyeron dietas con levadura activada (LA) por treinta minutos en agua destilada y levadura no activada (LNA), teniendo, por lo tanto, un total de 10 dietas experimentales y un control sin levadura.

A todas las dietas se les agregó el 0.5% de óxido de cromo como marcador para determinar los niveles de digestibilidad del alimento y de la proteína. Una vez elaboradas las dietas se almacenaron en refrigeración hasta su uso y se molieron para obtener partículas de acuerdo al tamaño requerido según la talla de los peces. La formulación y la composición proximal de las dietas se presentan en la Tabla 6.

En cada una de las 44 tinas se sembraron 20 tilapias con un peso promedio de $900 \text{ mg} \pm 10 \text{ mg}$ y se acondicionaron al sistema experimental por un periodo de siete días durante el cual se les suministró alimento balanceado con 40% de proteína. Después de este lapso, se les asignó de manera aleatoria el tratamiento correspondiente con cuatro réplicas para cada uno. El alimento se proporcionó manualmente a razón del 8% de la biomasa total, dividido en tres raciones durante el día.

Se realizaron biometrías semanales con la finalidad de registrar el crecimiento en peso, y supervivencia para ajustar la cantidad de alimento a proporcionar durante la siguiente semana. Tanto las biometrías como el mantenimiento del sistema experimental se realizaron de acuerdo a lo descrito para el estudio 2.

Tabla 6.- Formulación de las dietas experimentales

Ingredientes (%)	Control	LA03	LA07	LA1	LA1.5	LA2	LNA03	LNA07	LNA1	LNA1.5	LNA2
Harina de pescado	75.47	75.47	75.47	75.47	75.47	75.47	75.47	75.47	75.47	75.47	75.47
Aceite de soya	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38
Almidón	15.15	15.12	15.08	15.05	15.05	15.05	15.12	15.08	15.05	15.05	15.05
Premezcla de minerales ¹	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Premezcla de vitaminas ²	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Carboximetil celulosa	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Óxido de cromo	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Probiótico	0	0.03	0.07	0.1	0.15	0.2	0.03	0.07	0.1	0.15	0.2
Composición proximal (% base húmeda)											
Humedad	3.23	3.31	3.16	2.83	2.88	3.00	3.54	3.62	2.95	3.46	2.92
Proteína	40.21	40.18	39.98	39.54	40.84	39.65	40.66	39.56	38.98	39.36	40.07
Lípidos	12.42	12.33	12.52	12.47	12.5	12.57	12.68	12.57	12.43	12.02	12.38
Cenizas	22.72	23.01	23.33	23.14	23.01	23.04	21.69	23.04	23.16	23.35	22.8
Fibra Cruda	0.716	0.716	0.717	0.719	0.719	0.718	0.714	0.713	0.718	0.714	0.718
E. L. N. ³	20.71	20.45	20.3	21.31	20.06	21.02	20.71	20.68	23.16	23.35	22.8
Energía bruta (Kcal/100g)	430.75	432.15	429.96	431.22	432.68	433.01	430.54	431.82	431.66	430.73	432.14

¹ Premezcla de minerales (Tacon *et al.*, 1984)

² Premezcla de vitaminas (Jauncey & Ross, 1982)

³ E. L. N.= Extracto Libre de Nitrógeno

L A: Probiótico activado, LNA: Probiótico no activado.

A partir de la tercera semana se colectaron diariamente las heces mediante la técnica de sifoneo, se secaron en estufa a 70°C por 24h y se almacenaron en recipientes herméticos en refrigeración para posteriormente realizar los análisis correspondientes.

Al inicio y al final del experimento se sacrificó un grupo de peces con la finalidad de analizar la composición corporal de los animales. Tanto a las dietas como a los peces sacrificados antes y después del experimento, se les realizaron análisis proximales de acuerdo a métodos estándar (AOAC, 1990).

A las dietas y a las heces recolectadas a lo largo del experimento se les realizaron análisis del contenido de óxido de cromo para evaluar la digestibilidad del alimento, aplicando el método de digestión ácida de Furukawa & Tsukahara (1966). A las heces, además, se les determinó el contenido de proteína para evaluar la digestibilidad de la misma.

Resultados

Después de 10 semanas se observó que la inclusión de la levadura en las dietas afectó el crecimiento de los peces pero no se encontraron diferencias entre los distintos tratamientos ($p>0.05$). Las dietas con levadura no activada (LNA07 y LNA1.5) presentaron un mejor

crecimiento con respecto al control, mientras que, los tratamientos con LA03, LA07, y LNA2, presentaron el menor crecimiento con respecto a los demás tratamientos.

En general los animales aceptaron bien la dietas, ya que en ningún momento hubo signos de rechazo hacia ellas, por lo que la mortalidad registrada, se atribuyó exclusivamente a el manejo de los animales. Tal como se aprecia en la Tabla 7, la supervivencia presentó valores variables entre los diferentes tratamientos sin diferencias estadísticas entre ellos ($p>0.05$). El valor máximo de supervivencia se observó en la dieta LA03, mientras que la menor supervivencia se obtuvo en la dieta LNA1.

El peso final de los organismos fue estadísticamente semejante entre los tratamientos ($p>0.05$), sin embargo, las dietas LNA07 y LNA1.5 dieron lugar a mejores resultados con respecto al control. Los peces que recibieron las dietas LA03 y LA07 presentaron el menor peso final con respecto a todos los tratamientos. Esta tendencia se observó en los cálculos de peso ganado en porcentaje y en la tasa específica de crecimiento con resultados estadísticamente iguales ($p>0.05$). Aún cuando los resultados en las dietas con levadura no activada fueron mayores, no hubo diferencias estadísticas entre el tipo de levadura.

Los resultados de peso ganado individual (mg/día) fueron estadísticamente semejantes ($p>0.05$) entre los diferentes tratamientos, pero las dietas que contenían, 0.07% (LNA07), 0.1% (LNA1), 0.15% (LNA1.5) de levadura no activada y 0.15% (dieta LA1.5) de levadura activada, dieron lugar a valores más elevados que el control.

En los cálculos del consumo de nitrógeno y de proteína, se observó un comportamiento similar en ambos parámetros, en los que no se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$). Similarmente, no hubo diferencias estadísticas en la TCA entre los tratamientos, obteniéndose los mejores resultados con los mayores niveles de inclusión del probiótico (LA1.5, LA2, LNA1.5 y LNA2).

Los resultados en términos de la tasa de eficiencia proteica tampoco presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos. Las dietas LA03, LNA03 y LNA07 presentaron valores menores que los obtenidos en el control, mientras que los demás tratamientos, obtuvieron resultados mayores con respecto al mismo. La tasa de retención de nitrógeno en el cuerpo, fue mayor con la dieta LNA1.5, pero sin diferencias estadísticas con respecto a los demás tratamientos.

La mejor Utilización Aparente de Nitrógeno se obtuvo con la dieta control, la cual junto con la dieta LNA1.5 dieron valores estadísticamente superiores a los demás tratamientos, seguidas por las dietas LA03, LA1 y LNA2 y con diferencias estadísticas con respecto a las demás ($p<0.05$). La dieta LNA03 dio valores significativamente menores a los demás tratamientos. La digestibilidad aparente de materia orgánica (DAMO) fue superior al 90% en todos los tratamientos, mientras que los valores de digestibilidad aparente de proteína permanecieron alrededor del 80%. Los valores máximos de DAMO se observaron en la dieta LA07 y los de DAP en la dieta LNA03, mientras que los más bajos se presentaron, en ambos casos en la dieta control.

Al comparar la composición corporal de los peces al final del estudio, se observó que el contenido de proteína en el cuerpo de los animales fue estadísticamente diferente en todos los tratamientos (Tabla 8). El mayor nivel se obtuvo con la dieta control, seguida de la dieta LA03 y LNA1.5 mientras que en la dieta LNA03 se registró el menor resultado. El grupo de tratamientos con levadura activada no presentó diferencias estadísticas significativas con respecto al grupo de dietas no activadas ($p > 0.05$). Debido a que todas las dietas contenían el mismo nivel de proteína (40%), no se observó ninguna relación entre la proteína corporal y el contenido en las dietas.

Los peces que recibieron los tratamientos con levadura, ya sea activada o no activada, presentaron una tendencia a acumular grasa dentro del cuerpo, con resultados significativamente más altos en comparación al control. La mayor retención de grasa se observó en la dieta LNA03, la cual presentó bajo nivel de proteína corporal y alto contenido de cenizas, seguido de los tratamientos LNA07 y LNA1. La menor retención de grasas en el cuerpo, la presentó la dieta control, en la cual se observó la mayor acumulación de proteína cruda y de cenizas, seguida de los tratamientos LA2 y LNA2, los cuales presentaron también altos contenidos de proteína y cenizas (Tabla 8). En general, la composición corporal de los peces de todos los tratamientos se consideró adecuada y dentro de los intervalos normales.

Tabla 7. Efecto en el crecimiento de tilapia nilótica al incluir *Saccharomyces cerevisiae* en el alimento.

Valores promedio ¹	Control	LA03	LA07	LA1	LA1.5	LA2	LNA03	LNA07	LNA1	LNA1.5	LNA2	E.E.±
Supervivencia %	65 ^a	77.5 ^a	73.75 ^a	66.25 ^a	67.5 ^a	63.75 ^a	66.25 ^a	67.5 ^a	62.5 ^a	68.75 ^a	67.5 ^a	0.1566
Peso Inicial (mg)	495.50 ^a	491.37 ^a	493.75 ^a	493.75 ^a	492.63 ^a	490.25 ^a	491.75 ^a	489.5 ^a	497.75 ^a	491.37 ^a	492.38 ^a	
Peso Final mg)	6753.10 ^a	5048.15 ^a	5293.68 ^a	6502.35 ^a	6554.75 ^a	6315.11 ^a	6146.26 ^a	7545.56 ^a	6706.19 ^a	7820.7 ^a	5779.32 ^a	18.117
Peso ganado (%)	1262.98 ^a	927.97 ^a	973.16 ^a	1217.54 ^a	1229.44 ^a	1187.81 ^a	1151.03 ^a	1442.34 ^a	1247.84 ^a	1490.78 ^a	1074.13 ^a	0.2980
Peso ganado(mg/día)	72.28 ^a	54.47 ^a	58.28 ^a	70.20 ^a	73.44 ^a	70.84 ^a	67.44 ^a	85.30 ^a	74.79 ^a	84.96 ^a	66.16 ^a	21.72
T. E. C. (% /día)	4.13 ^a	3.69 ^a	3.74 ^a	4.07 ^a	4.01 ^a	4.01 ^a	3.92 ^a	4.24 ^a	4.09 ^a	4.35 ^a	3.9 ^a	0.1076
Alim. Consumido (mg /día)	79.22 ^a	62.30 ^a	62.58 ^a	76.01 ^a	73.24 ^a	74.27 ^a	72.37 ^a	93.98 ^a	82.64 ^a	87.48 ^a	69.10 ^a	19.77
T. C. A.	1.10 ^a	1.15 ^a	1.08 ^a	1.09 ^a	1.02 ^a	1.06 ^a	1.09 ^a	1.13 ^a	1.12 ^a	1.05 ^a	1.04 ^a	1.8739
Cons. Nitrógeno (mg/día)	5.10 ^a	4.00 ^a	3.90 ^a	4.81 ^a	4.79 ^a	4.71 ^a	4.71 ^a	5.95 ^a	5.15 ^a	5.51 ^a	4.43 ^a	1.2545
Cons. proteína mg/día)	31.85 ^a	25.03 ^a	24.40 ^a	30.05 ^a	29.91 ^a	29.45 ^a	29.43 ^a	37.18 ^a	32.21 ^a	34.43 ^a	27.69 ^a	7.8410
RNC (mg/día)	1.67	1.99 ^a	1.74 ^a	2.43 ^a	2.29 ^a	2.15 ^a	1.88 ^a	2.64 ^a	2.48 ^a	3.14 ^a	2.18 ^a	2.1045
PER	2.27 ^a	2.18 ^a	2.38 ^a	2.33 ^a	2.42 ^a	2.39 ^a	2.26 ^a	2.24 ^a	2.30 ^a	2.43 ^a	2.41 ^a	1.8918
UAN (%)	38.57 ^a	49.96 ^{ab}	44.49 ^{bc}	50.5 ^{ab}	47.6 ^b	45.67 ^{bc}	39.48 ^c	43.34 ^{bc}	47.68 ^b	56.62 ^a	49.83 ^{ab}	2.1403
DAMO (%)	81.27	85.03	85.92	85	83.91	86.96	84.54	84.47	83.17	83.37	83.38	
DAP (%)	94.88	96.89	97.06	96.07	96.83	96.31	97.45	96.78	97.01	97.35	97.27	

¹Valores con el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes (p < 0.05)

Tabla 8. Composición proximal del cuerpo de las crías de tilapia alimentadas con diferentes niveles de levadura.

Composición %	Peces iniciales	Dietas											E.E.±
		Control	LA03	LA07	LA1	LA1.5	LA2	LNA03	LNA07	LNA1	LNA1.5	LNA2	
Humedad	81.96	69.63 ^a	70.53 ^a	70.35 ^a	70.33 ^a	71.11 ^a	70.82 ^a	70.62 ^a	68.69 ^a	69.54 ^a	68.9 ^a	69.71 ^a	1.1377
Proteína cruda	12.51	18.25 ^a	16.72 ^b	14.11 ^f	15.7 ^{cd}	14.7 ^e	14.4 ^{ef}	13.1 ^g	14.6 ^e	15.5 ^d	16.6 ^b	15.92 ^c	0.2184
Lípidos	1.69	5.30 ^g	6.42 ^d	6.33 ^e	6.62 ^c	6.4 ^d	5.99 ^f	6.29 ^e	7.27 ^a	7.10 ^b	7.07 ^b	5.94 ^f	0.5612
Cenizas	2.91	5.93 ^a	5.46 ^{bc}	5.64 ^b	5.42 ^c	5.36 ^c	5.53 ^{bc}	5.45 ^{bc}	5.75 ^{ab}	5.79 ^{ab}	5.80 ^{ab}	5.91 ^a	1.1491

Valores con el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

DISCUSIÓN GENERAL

El estudio de la comparación del efecto de probióticos y antibióticos como promotores de crecimiento se realizó como un preliminar para conocer el efecto del probiótico y compararlo con un promotor de crecimiento convencional. Se observaron resultados semejantes a los obtenidos por Bogut *et al.* (1998) que al suministrar probióticos en carpa (*Cyprinus carpio*) se obtuvo un crecimiento superior que al utilizar antibióticos como promotores de crecimiento, lo que corrobora que los probióticos pueden remplazar el uso de antibióticos como promotores de crecimiento.

Por otro lado se observaron conversiones alimenticias semejantes entre el control y el antibiótico mientras que al suministrar probiótico esta bajo. Esto puede ser ocasionado por la eliminación de ciertas bacterias por parte del antibiótico, las cuales son capaces de producir aminoácidos, carbohidratos simples y ácidos grasos a partir de macro nutrientes. Por otro lado, la baja tasa de conversión alimenticia en los animales a los cuales se les administro el probiótico esta relacionada con la capacidad de las bacterias ácido lácticas de degradar lo macro nutrientes a moléculas más simples (Naidu *et al.*, 1999). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Uc (1999), quien observó que ciertas bacterias de la microflora eran eliminadas al administrarse antibióticos en dietas para tilapia, lo que ocasionaba una disminución en el aprovechamiento del alimento, mientras que al proporcionarle el probiótico se aumentaba el aprovechamiento del mismo.

En el estudio del efecto de la inclusión de probióticos en dietas para tilapia nilótica sometida a estrés, se observó que la adición de ambos probióticos incrementó la supervivencia significativamente, independientemente del tipo de estrés al que se sometieran los animales. Gatesoupe (1994) ya había observado este efecto cuando logró mejorar la supervivencia de larvas de *Scophthalmus maximus* al administrarles bacterias ácido lácticas; de igual forma, Douillet & Langdon (1994) al utilizar un tipo de levadura (CA2) incrementaron la supervivencia de larvas de *Crassostrea gigas*. En este experimento se comprobó que la adición de un probiótico en dietas para tilapia incrementa la supervivencia de los organismos, en este caso, independientemente del tipo de estrés aplicado.

También se observó que la adición de algún tipo probiótico en condiciones de estrés dio lugar a crecimientos superiores al control con la excepción de ALL-LAC[®] cuando se administraba en dietas con proteína óptima, mientras que en condiciones de proteína óptima no causó un efecto significativo lo cual indicaba por un lado que este probiótico solo actuaba eficientemente en casos donde las dietas tuvieran altos contenidos de carbohidratos. Naidu *et al.* (1999) habían observado esto cuando al utilizar probióticos en humanos y diferentes especies animales la dieta no era rica en carbohidratos. También podría estar relacionado con las características fisiológicas de los microorganismos ya que, las levaduras son microorganismos con mayor capacidad de adaptación en el medio acuático en comparación al *Lactobacillus* y el *Streptococcus*. Vázquez-Juárez *et al.* (1994) realizaron un experimento con levaduras aisladas de trucha arco iris silvestre y reintroducidas a otros organismos de la misma especie en cultivo, lo que incrementó el

crecimiento de los organismos significativamente; los resultados fueron similares en el presente experimento al utilizarse *Sacharomyces cerevisiae*.

El aprovechamiento del alimento fue mayor con los tratamientos a los cuales se les adicionó probióticos, observándose tasas de conversión alimenticia mejores a la de los controles. Se ha observado que los microorganismos son capaces de producir aminoácidos, carbohidratos simples y ácidos grasos a partir de macro nutrientes (proteínas, polisacáridos, grasas) los cuales son mejor asimilados por el animal, lo que ocasiona que el alimento sea aprovechado con mayor eficiencia y se mejore la conversión alimenticia. Gil (1997a) obtuvo resultados semejantes al administrar *Lactobacillus acidophilus* en dietas para lechones. Esto indica que la utilización del probiótico disminuye la cantidad de alimento necesario para el crecimiento, del animal lo cual se refleja en una disminución en el costo de producción.

Los resultados en términos de tasa de eficiencia proteica indicaron un mayor valor biológico de las dietas con 27% de proteína a altas densidades y la adición de ambos probióticos, lo cual indica que en situaciones de estrés el probiótico actúa con mayor eficiencia. Lo anterior se puede deber a que estas dietas tenían un mayor contenido de carbohidratos, los cuales son una fuente de carbono disponible para el desarrollo de los microorganismos, los cuales convierten los azúcares a lactato, una fuente de energía simple que es aprovechada por los peces de manera más eficiente. Gallaher *et al.* (1996) observaron que al suministrar a ratas dietas con mayor contenido de carbohidratos, la bioquímica de los nutrientes se veía alterada, obteniendo mayor aprovechamiento proteico debido a que los carbohidratos eran mejor aprovechados como energía quedando más proteína disponible para formación de tejido.

En estudios realizados con animales terrestres (Bougon *et al.*, 1988; Rychen & Nunes, 1994; Gil, 1997a), se ha observado que la digestibilidad se incrementa considerablemente al administrar algún tipo de probiótico. Por los resultados del presente trabajo, se puede argumentar que sucede un efecto similar en los organismos acuáticos.

De acuerdo a lo anterior se observó que las levaduras presentaban ventajas adaptativas al medio acuático a las de la mezcla bacteriana. Dado que las levaduras se desarrollan en medios acuáticos, y que su fisiología esta íntimamente relacionada a la degradación de macromoléculas proteicas en aminoácidos esenciales, y que la producción de vitaminas por éstas es significativa, las levaduras se presentaron como la opción más viable a ser utilizadas como probióticos en animales acuáticos. Diversos autores (Vázquez-Juárez *et al.*, 1994; Walker, 2000) han recomendado a las levaduras como probióticos para organismos acuáticos, reportando resultados similares en supervivencia y conversión alimenticia, sin embargo, ningún estudio se ha determinado el nivel óptimo de inclusión de la levadura.

En el estudio para determinar el nivel óptimo de inclusión de *S. cerevisiae* en dietas para tilapia, se observó que la levadura influyó en los parámetros de crecimiento de los peces, pero no se presentaron diferencias significativas con respecto al control, sin embargo, los resultados mostraron que las dietas LNA07 y LNA1.5 dieron lugar a mejores respuestas, lo

que indica que la inclusión de la levadura no activada tiene efectos positivos sobre el desempeño de los animales.

Al comparar los resultados obtenidos en esta investigación, con los trabajos en los que se ha utilizado levaduras como promotores de crecimiento utilizando otras especies, se encontró un patrón de comportamiento similar. Tal es el caso de Cho *et al.* (2001) quien al trabajar con escorquina coreana (*Sebastes schlegeli*) encontró que al utilizar *S. cerevisiae* como probiótico obtuvo mayor crecimiento en las dietas que contenían la levadura pero no encontró diferencias significativas con respecto al control. Tovar *et al.* (2000) al trabajar con lubina europea (*Dicentrarchus labrax*), y utilizar dos levaduras (*S. cerevisiae* y *Debaryomyces hansenii*) como promotores de crecimiento, encontró menor crecimiento en las dietas que contenían ambas levaduras, pero esto se lo atribuyeron a la textura de las mismas. Al comparar los resultados con los obtenidos por Sholz *et al.* (1999), quien utilizó dietas para camarón (*Penaeus vannamei*) que contenían levadura *S. cerevisiae*, *Phaffia rhodozyma* y *S. cerevisiae* experimental, sin encontrar efectos significativos en los resultados de crecimiento entre las distintas dietas. Estos resultados corroboran, que aún cuando los crustáceos tienen diferencias en su sistema digestivo con respecto a los peces, la levadura no representó un elemento determinante en el crecimiento de los animales.

En cuanto a la supervivencia, al comparar los resultados obtenidos en las dietas que contenían levadura, ya sea activada o no activada, se observaron mayores valores con respecto al control, con excepción de las dietas LA2 y LNA1, pero no se encontraron diferencias significativas con respecto al mismo.

Los resultados obtenidos en otras investigaciones son variables, ya que Sholz *et al.* (1999) observaron igual supervivencia en juveniles de camarón *Penaeus vannamei*, al administrarles dietas que contenían levadura *S. cerevisiae*, *Phaffia rhodozyma* y *S. cerevisiae* experimental con respecto al control, mientras que Cho *et al.* (2001) encontraron baja supervivencia al utilizar *S. cerevisiae* como probiótico en dietas preparadas para escorquina coreana *Sebastes schlegeli*. Tovar *et al.* (2000) encontraron en lubina europea *Dicentrarchus labrax* igual supervivencia al utilizar *S. cerevisiae* como probiótico, mientras que, al usar la levadura *Debaryomyces hansenii*, la supervivencia aumentó un 8.3% con respecto al control.

Los resultados de los trabajos antes mencionados contrastan con los obtenidos por Lara (1999), quien alcanzó mayor supervivencia y crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) con respecto al control, al utilizar levadura *S. cerevisiae* como probiótico. En la investigación realizada por Lara se sometió a los animales a diferentes niveles de estrés, por lo que se considera que las condiciones de experimentación utilizadas en ese estudio son diferentes a las de los demás trabajos. El estrés se considera un factor importante en la variación de la microflora intestinal, por lo que al haber ausencia del mismo, los resultados obtenidos cambian (Suzuki *et al.*, 1989).

Esta información muestra la variación a la que puede estar sujeta la respuesta de los probióticos y, aún cuando los beneficios potenciales de utilizar cultivos de

microorganismos son un hecho, los efectos de los mismos son inconstantes ya que son varios los factores que pueden influir en los resultados. Entre las causas principales que afectan la respuesta de los probióticos se encuentran (Porter, 1988):

1. El microorganismo no sobrevivió al ser expuesto a los ácidos gástricos o bien durante el período de almacenamiento.
2. No se adhirió ni logró colonizar el intestino del huésped.
3. Las condiciones en las que se desarrollaron los animales eran óptimas, por lo que éstos se encontraban saludables y sin estrés, los microorganismos benéficos dentro de intestino eran lo suficientemente abundantes como para impedir la acción, la adhesión y la colonización de otros.

Alguno de esto factores influyó en la obtención de los resultados, ya que con la levadura utilizada no se lograron los beneficios esperados en la supervivencia y en el crecimiento. Por esta razón es importante analizar y estudiar la utilización, la dosificación y la reacción a los probióticos en general. El campo que brinda el funcionamiento interno del huésped es amplio y se encuentra disponible para la realización de más estudios al respecto.

La mejor eficiencia alimenticia se obtuvo con las dietas con levadura activada, LA1.5 y LA03 respectivamente. Es importante mencionar que las dietas suplementadas con levadura, activada o no activada, presentaron resultados excelentes de conversión alimenticia, al igual que el control. Sholz *et al.* (1999) al administrar dietas que contenían levadura *S. cerevisiae*, *Phaffia rhodozyma* y *S. cerevisiae* experimental a camarón *Penaeus vannamei* obtuvieron tasas de conversión alimenticia similares a lo largo de todo el período de experimentación, la última semana de suministrar las dietas, se obtuvieron diferencias estadísticas las cuales presentaron las tasas más bajas.

De Schrijver & Ollevier (2000) determinaron que la presencia de una bacteria probiótica estimula la degradación de las proteínas en el tracto intestinal y mejora la digestibilidad aparente de la misma. Britz (1996) utilizó levadura de torula como sustituto del alimento natural (algas) en abulón *Haliotis midae* y obtuvo mejores tasas con respecto al control. Este efecto se observa en los resultados obtenidos en este estudio ya que las dietas que contienen levadura presentaron mejores resultados de digestibilidad de materia orgánica y de proteína con respecto al control. La tasa de eficiencia proteica fue semejante entre todas las dietas, pero las que contenían levadura activada o no activada presentaron valores promedios más altos lo que podría indicar que la presencia del probiótico estimula la digestión de la proteína en el intestino.

Aún cuando no se obtuvo mayor supervivencia y mayor crecimiento en los peces con las dietas que contenían levadura, los resultados obtenidos demuestran que la digestibilidad del alimento se vio incrementada con respecto al control. Esto puede deberse a un mejor funcionamiento del tracto intestinal por la presencia del probiótico y a que la levadura provoca un efecto positivo sobre la digestibilidad. En general se observó que la adición del probiótico, ya sea activado o no activado mejoró la digestibilidad, lo que trajo como resultado un mejor aprovechamiento del alimento gracias a la levadura.

En los resultados obtenidos de la evaluación del estado adecuado para la utilización de la levadura, no se encontraron diferencias estadísticas significativas. La levadura no activada presentó los resultados más altos en varios de los parámetros: peso final promedio, % de peso ganado, peso ganado por día, Tasa Específica de Crecimiento, alimento consumido por día, consumo de nitrógeno, consumo de proteína y Digestibilidad Aparente de Proteína. La levadura activada tuvo los valores más altos en la supervivencia, la Tasa de Conversión Alimenticia y en la Digestibilidad Aparente de Materia Orgánica. El hecho que la levadura activada o no activada presente los resultados más altos de digestibilidad (DAMO y DAP), corrobora que el promotor de crecimiento utilizado ayudó a un mejor aprovechamiento de los alimentos.

En general, los resultados de los análisis estadísticos mostraron que la levadura se puede utilizar en cualquiera de las dos formas, activada o no activada, sin que los parámetros de crecimiento y alimentación se vean afectados.

CONCLUSIONES

1. Los probióticos pueden ser considerados como una opción viable para sustituir a los antibióticos como promotores de crecimiento.
2. La adición de un probiótico en la dieta de tilapias mitiga el efecto de los factores de estrés, lo que se ve reflejado en una mejora de la supervivencia de los organismos.
3. El crecimiento y aprovechamiento del alimento también es mejor en los tratamientos experimentales en los cuales las crías de tilapia sometida a factores de estrés reciben algún suplemento probiótico. En estas condiciones la levadura ofrece una mejor respuesta, siendo ésta la opción más viable para optimizar el crecimiento y el aprovechamiento del alimento en estos peces.
4. La digestibilidad del alimento también se incrementa cuando las dietas se suplementan con probióticos. El aprovechamiento del alimento fue mejor en las dietas que contenían levadura, lo que indica que los peces tienen mayor disponibilidad de nutrientes para el crecimiento y para la obtención de energía. Esto a largo plazo se refleja en lograr animales más sanos y con tallas más adecuadas para la comercialización en un menor tiempo.

5. La activación de la levadura no tiene efectos sobre el crecimiento y la supervivencia de los animales, por lo que no es necesario realizar esta operación antes de adicionar el probiótico a la dieta.
6. En etapas más tempranas de crecimiento y en presencia de factores de estrés, el efecto probiótico es más evidente, por lo que se recomienda su uso en las fases iniciales del cultivo principalmente cuando se manejan altas densidades de siembra y las condiciones ambientales son deficientes.

BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C., 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14 th edition. Arlington, VA, 3413 pp.
- APHA, AWWA, WPCF, 1985. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 16th Edition, USA. 1268 p.
- Bogut, I., Milakovic, Z., Brkic, S., Zimmer, R., 1998. Influence of probiotic (*Streptococcus faecium* M74) on growth and content of intestinal microflora in carp (*Cyprinus carpio*). Czech. J. Anm. Sci. 43, 231-235.
- Bougon, M., Launay, M., Le Ménec, M., 1988. Influence d'un probiotique, le *Biocroissance*, sur les performances des pondeuses. Bul. d'Inf., Station Exp. d'Aviculture de Plofragan 28, 110-115.
- Britz, P. J., 1996. The suitability of selected protein sources for inclusion in formulated diets for the South African abalone, *Haliotis midae*. Aquaculture 140, 63-73.
- Cho, S. H., Hur, S. B., Jo, J. Y., 2001. Effect of enriched lived feeds on survival and growth in larval Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*, Hilgendorf. Aquaculture Research 32, 199-208.
- De Schrijver, R., Ollevier, F., 2000. Protein digestion in juvenil turbot (*Scophthalmus maximus*) and effect of diatry administration of *Vibrio proteolyticus*. Aquaculture 186, 107-116.
- Douillet, P. A., Langdon, J., 1994. Use of a probiotic for culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). Aquaculture 119, 25-40.
- Fox, S., 1988. Probiotics: Intestinal inoculants for produccion animals. Vet. Med., 806- 823.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. A review. J. App. Bact. 56, 365-378.
- Fuller, R., 1992. History and development of probiotics. In: Probiotics: the Scientific Basis, Chapman and Hall, London, 232 pp.
- Furukawa, H., Tsukahara, H., 1966. On the acid digestion method for determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of this fed. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 32, 207-217.
- Gallaher, D., Stallings, W., Blessing, L., Busta, F., Brady, L., 1996. Probiotics, caecal microflora, and aberrant crypts in the rat colon in biochemical and molecular roles of nutrients. Journal of Applied Bacteriology 63, 1362-1371.
- Gatesoupe, F., 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic vibrio. Aquat. Living Resour. 7, 277-282.
- Gil, F., 1997a. Empleo de enzimas en Nutrición animal. <http://www.ered distrito.com/usuarios/Pacogil/enzimas.htm>, 1-4.
- Gil, F., 1997b. Probióticos en nutrición animal, <http://www.ered.districto.com/usuarios/Pacogil/probioticos.htm>, 1-4.
- Jaucey K., Ross B., 1982. A Guide to Tilapia Feeds and Feeding. Institute of Aquaculture University of Stirling, Scotland, 62 pp.
- Lara, M., 1999. Efecto de la utilización de probióticos en la alimentación de la Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) sometida a diferentes condiciones de estrés. Tesis de Maestría. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I.P.N. Unidad Mérida, Mérida Yucatán, México, 67 pp.
- Naidu, A. S., Bidlack, W. R., Clemens, R. A., 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). Critical Reviews in Food Science and Nutrition 38(1),13-126.

- Porter, W. L., 1988. Practical application of probiotic in livestock production. In: B.A. Stark and J. M. Wilkinson (eds.), Probiotics, Theory and Applications. USA, 39-45.
- Rychen, G., Nunes, S., 1994. Effects of three microbial probiotics on postprandial portoarterial concentration differences of glucose, galactose and amino-nitrogen in the young pig. Report of Centre de Recherche en Nutrition Animale, Société Chimique Roche, 107 pp.
- Sholz, U., García, G., Ricque, D., Cruz, L. E., Vargas, F., Latchford, J., 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. *Aquaculture* 176, 271-283.
- Suzuki, K., Kodama, Y., Mitsouka, t., 1989. Stress and intestinal flora. *Bifibacteria Microflora* 8, 23-38.
- Tacon, A. G. J., 1984. Use of solvent extracted sun flower seed meal in complete diets for fingerling rainbow trout (*Salmo gaidneri*). *Aquaculture* 43, 381-389.
- Tovar, D., Zambonino, J. L., Cahu, C., Gatesoupe, F. J., Vázquez, R., 2000. Efecto de la administración de levaduras en el proceso de maduración del tracto digestivo de peces. In: Avances en Nutrición Acuícola. V memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán, México.
- Uc Huchín, N., 1999. Estudio comparativo del efecto de la inclusión de una mezcla probiótica (*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus faecium*) y un antibiótico (*Terramicina*) como promotores de crecimiento en dietas de tilapia nilótica (*O. niloticus*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yuc. México, 37 pp.
- Vázquez-Juárez, R., Ascensio, F., Andlid, T., Gustafsson, L. 1994. Cell surface hydrophobicity and its relation to adhesion of yeasts isolated from fish gut. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2, 199-208.
- Walker, G. M., 2000. *Yeast Physiology and Biotechnology*. John Wiley & Sons LTD, Baffins Lane, Chichester, England, 350 pp.