

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA



**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**Efecto de la restricción de alimento en cachama (*Piaractus
brachypomus*) con la adición de *Bacillus subtilis* en la dieta**

AUTORES:

Bryan Esteban Erazo Patiño

Diego Vinicio Riera Riera

DIRECTOR DEL PROYECTO:

MSc. Ricardo Burgos Morán

PUYO – ECUADOR

2019

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Bryan Esteban Erazo Patiño según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el presente Proyecto de Investigación con de mi exclusiva responsabilidad.

Bryan Esteban Erazo Patiño

C.I: 1600504656

Yo, Diego Vinicio Riera Riera según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el presente Proyecto de Investigación con de mi exclusiva responsabilidad.

Diego Vinicio Riera Riera

C.I: 1401071954

**CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN**

Yo, Ricardo Burgos Morán, certifico que los alumnos Bryan Esteban Erazo Patiño y Diego Vinicio Riera Riera son los autores del presente Proyecto de Investigación. Para la culminación del mismo tuvieron que dedicar muchísimas horas de trabajo y sobre todo esfuerzo sin lo cual no hubieran podido concluir. Finalmente pienso que lograron un excelente material que puede ser sometido a consideración del tribunal propuesto.

Blgo. MSc. Ricardo Burgos Morán

DIRECTOR DEL PROYECTO



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND



Oficio No. 110-SAU-UEA-2019

Puyo, 12 de septiembre de 2019

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Proyecto de Investigación correspondiente a los egresados RIERA RIERA DIEGO VINICIO con C.I. 1401071954; y, ERAZO PATIÑO BRYAN ESTEBAN con C.I. 1600504656, con el Tema: “Efectos de la restricción de alimento en cachama (*Piaractus brachypomus*) con la adición de *Bacillus subtilis* en la dieta”, de la carrera Ingeniería Agropecuaria, director de proyecto MSc. Ricardo Burgos Morán, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 0%, Informe generado con fecha 11 de septiembre de 2019 por parte del director, conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Ing. Ítalo Marcelo Lara Pilco MSc.

ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

CERTIFICACIÓN DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El proyecto de investigación titulado “ **Efecto de la restricción de alimento en cachama (*Piaractus brachypomus*) con la adición de *Bacillus subtilis* en la dieta**”, fue aprobado por los siguientes miembros del tribunal.

Dr. Willian Orlando Caicedo Quinche, PhD

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Verónica Cristina Andrade Y

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MSc. Pablo Ernesto Arias

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADACIMIENTO

En primer lugar a Dios por el deleite de la vida, por su sabiduría e instrucción. A la familia, porque sin su esfuerzo y sacrificio imposible alcanzar cumplir con los sueños y metas, su amor incondicional alentaron siempre a no dejar de luchar y caminar para delante con muchas ganas.

A todo el grupo de profesores que a lo largo de la carrera compartieron sus conocimientos, en especial al Blgo. MSc. Ricardo Burgos, que gracias a su ayuda, consejos y sabiduría hemos podido concluir este trabajo

A todos los amigos, con los cuales fue un placer haber compartido estos años de universidad y que aportaron de una u otra forma en este proyecto.

Finalmente me queda agradecer a la Universidad Estatal Amazónica por haberme acogido durante mis años de estudio y habernos brindado sus recursos necesarios para poder sacar adelante nuestro proyecto de tesis.

-

DEDICATORIA

A Dios por ser el guía de mi vida, a mis padres Wilson y Jacqueline, por su constante amor, apoyo y confianza, por instruirme y motivarme a mejorar día a día en cada curso de mi vida. A mis abuelos, Benjamín y Dolores, por su apoyo desde el inicio de mi vida académica y por sus enseñanzas de lucha y garra. Sin olvidar a mis queridos hermanos que son el motor e inspiración para lograr grandes retos.

Esteban Erazo

A mi padre, Humberto Riera, por ser motivación de esfuerzo y trabajo y a mi madre Luz Riera, que es mi fortaleza y el amor de mi vida, por comprenderme, brindarme de su amor y ayuda incalculable. A mi hermana que me enseñó el valor a encaminarme y enfocarme para alcanzar mis sueños y metas; y sin pasar por alto a mis amigos incondicionales.

Diego Riera

Resumen Ejecutivo y palabras claves

El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de la restricción del alimento en *P. brachypomus* con la adición de *B. subtilis* en la dieta. Se aplicaron estrategias de restricción alimenticia durante 28 días, cada uno con periodo de ayuno y realimentación, proporcionándoles el 3% de la tasa de ingesta. Se utilizó 144 peces juveniles de *P. brachypomus* con $222,29 \pm 38,26$ g de peso y $18,33 \pm 1,18$ de longitud, dispuestos en ocho tratamientos con tres réplicas, T1prob (alimentación por 6 días y ayuno de 1 día, con *B. subtilis*); T1sprb (alimentación por 6 días y ayuno de 1 día, sin *B. subtilis*); T2prob (alimentación por 4 días y ayuno de 3 días, con *B. subtilis*); T2sprb (alimentación por 4 días y ayuno de 3 días, sin *B. subtilis*); T3prob (alimentación por 2 días y ayuno de 5 días, con *B. subtilis*); T3sprb (alimentación por 2 días y ayuno de 5 días, sin *B. subtilis*); Cprob (alimentación por 7 días, con *B. subtilis*) y Csprb (alimentación por 7 días, sin *B. subtilis*). Se realizó mediciones zootécnicas a los días 1 y 28, para determinar los parámetros productivos como: ganancia de peso (GP), conversión alimenticia (CA), eficiencia alimenticia (EA), índice de condición (K) y supervivencia (S). Al final del experimento los animales fueron sacrificados para toma de muestras sanguíneas, determinándose hematocrito, hemoglobina, perfil leucocitario; además de obtener su hígado y músculo, para su índice hepatosomático, contenido proteico y lipídico. Se utilizó un diseño completamente al azar y se trabajó significativamente con Test de Tukey. Los individuos que toleraron ayuno presentaron resultados similares estadísticamente en relación a los grupos control en cuanto a parámetros productivos. El análisis bromatológico del músculo a nivel proteico en el T1spb fue superior ($18,74 \pm 9,03$) mientras en el T3spb presentan los menores valores ($11,78 \pm 7,34$). El perfil hematológico presentó un incremento de hematocrito ($44,66 \pm 5,79$) y hemoglobina ($14,88 \pm 1,93$) en el T3sprb, siendo el de mayor respuesta, y el T1prob el más bajo ($28,61 \pm 2,96$; $9,53 \pm 0,98$, respectivamente). El conteo leucocitario incrementó su respuesta con *B. subtilis*. Se concluye que la restricción de alimento del T2prob (4 días de alimentación y 3 días de ayuno, con *B. subtilis*) presentó valores estadísticamente similares a los controles en los indicadores productivos, hematológicos y bromatológicos, identificándose como una estrategia de alimentación para *P. brachypomus*.

Palabras claves: *Piaractus brachypomus*, ayuno, hepatosomático, inmunoestimulante, probiótico.

Abstracts and keywords

The purpose of this work was to evaluate the effect of food restriction on *P. brachypomus* with the addition of *B. subtilis* in the diet. Food restriction strategies were applied for 28 days, each with a fasting and feedback period, providing them with 3% of the intake rate. 144 juvenile *P. brachypomus* fish were used with 222.29 ± 38.26 g in weight and 18.33 ± 1.18 in length, arranged in eight treatments with three replicates, T1prob (feeding for 6 days and fasting for 1 day, with *B. subtilis*); T1sprb (feeding for 6 days and fasting for 1 day, without *B. subtilis*); T2prob (feeding for 4 days and fasting for 3 days, with *B. subtilis*); T2sprb (feeding for 4 days and fasting for 3 days, without *B. subtilis*); T3prob (feeding for 2 days and fasting for 5 days, with *B. subtilis*); T3sprb (feeding for 2 days and fasting for 5 days, without *B. subtilis*); Cprob (feed for 7 days, with *B. subtilis*) and Csprb (feed for 7 days, without *B. subtilis*). Biometrical measurements were made on days 1 and 28, to determine the productive parameters like: weight gain (GP), food conversion (CA), food efficiency (EA), condition index (K) and survival (S). At the end of the experiment the animals were sacrificed for blood sampling, determining hematocrit, hemoglobin, leukocyte profile; In addition to obtaining your liver and muscle, for its hepatosomatic index, protein and lipid content. A completely randomized design was used and significantly worked with Tukey Test. Individuals that tolerated fasting presented similar results statistically in relation to the control groups, in terms of productive parameters. The protein bromatological analysis at the protein level in T1spb was higher (18.74 ± 9.03) while in T3spb they had the lowest values (11.78 ± 7.34). The hematological profile showed an increase in hematocrit (44.66 ± 5.79) and hemoglobin (14.88 ± 1.93) in T3sprb, with the highest response, and T1prob the lowest (28.61 ± 2.96 ; 9.53 ± 0.98 , respectively). The leukocyte count increased its response with *B. subtilis*. It is concluded that the food restriction of T2prob (4 days of feeding and 3 days of fasting, with *B. subtilis*) presented statistically similar values to the controls in the productive, hematological and bromatological indicators, being identified as a feeding strategy for *P. brachypomus*

Keywords: *Piaractus brachypomus*, fasting, hepatosomatic, immunostimulant, probiotic.

ÍNDICE

CAPITULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Problema de Investigación	2
1.2. Formulación del problema	2
1.3. Objetivos	2
1.3.1. Objetivo General	2
1.3.2. Objetivos específicos.....	2
CAPÍTULO II	4
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	4
2.1. Generalidades	4
2.2. Crecimiento	4
2.3. Regulación de consumo	5
2.4. Metabolismo	5
2.5. Restricción alimentaria	5
2.6. Crecimiento compensatorio.....	6
2.7. Probiótico	7
2.8. <i>Bacillus subtilis</i>	7
2.9. Cachama.....	8
CAPÍTULO III.....	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1. Localización	9
3.2. Tipo de investigación.....	9
3.3. Métodos de investigación.....	9
3.3.1. Selección de ejemplares	9
3.3.2. Manipulación del cultivo experimental.....	9

3.3.3. Toma de muestra	11
3.3.4. Análisis de laboratorio.....	12
3.4. Diseño de la investigación	14
3.6. Análisis estadístico	15
3.7. Recursos humanos y materiales.....	15
3.7.1. Recursos humanos.....	15
3.7.2. Recursos materiales.....	16
CAPÍTULO IV	17
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1. Indicadores productivos	17
4.1.1. Ganancia de peso	17
4.1.2. Conversión alimenticia.....	19
4.1.3. Eficiencia alimenticia	20
4.1.4. Índice de condición	21
4.2. Variables morfofisiológicas.....	22
4.2.1. Índice Hepatosomático	22
4.3. Análisis bromatológico proximal.....	23
4.3.1. Proteína y grasa en músculo	23
4.4. Análisis hematológico	26
4.4.1. Análisis de línea roja	26
4.4.2. Análisis de línea blanca.....	28
CAPÍTULO V	31
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31

5.1. Conclusiones.....	31
5.2. Recomendaciones.....	32
CAPITULO VI	33
6. Bibliografía.....	33
CAPITULO VII	39
7. Anexos	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis químico de la dieta.....	9
Tabla 2. Tratamientos	10
Tabla 3. Indicadores productivos.....	11
Tabla 4. Materiales y equipos.....	15
Tabla 5. Temperatura durante el ensayo experimental	17
Tabla 6. Porcentaje de leucocitos	26

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfico 1. Evolución de la ganancia de peso en <i>P. brachypomus</i> durante el experimento .	18
Gráfico 2. Biomasa de <i>P. brachypomus</i> durante el ensayo experimental.....	18
Gráfico 3. Tasa de conversión alimenticia en <i>P. brachypomus</i> durante el ensayo experimental	19
Gráfico 4. Eficiencia alimenticia en <i>P. brachypomus</i> durante el ensayo experimental.....	20
Gráfico 5. Índice de condición en <i>P. brachypomus</i> durante el ensayo experimental.....	21
Gráfico 6. Índice hepatosomático en <i>P. brachypomus</i> a 28 días del ensayo experimental..	22
Gráfico 7. Contenido proteico y lipídico del músculo en <i>P. brachypomus</i> a 28 días del ensayo experimental.....	23
Gráfico 8. Contenido proteico y lipídico del hígado en <i>P. brachypomus</i> a 28 días del ensayo experimental.....	25
Gráfico 9 . Contenido de hemoglobina y hematocrito en <i>P. brachypomus</i> a 28 días del ensayo experimental.....	27
Gráfico 10. Perfil leucocitario en <i>P. brachypomus</i> a 28 días del ensayo experimental.....	29

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

El impacto social y económico que ha ocasionado la producción piscícola a nivel mundial para la obtención de alimentos para subsistencia familiar y generación de ingresos, se ha convertido en una solución para todos los que habitamos en el planeta (FAO, 2016)

Los peces son el recurso proteico que más aporta a la dieta de la población humana; y la piscicultura contribuye con aproximadamente el 50% de los productos pesqueros globales destinados a la alimentación (FAO, 2018). Este gran volumen ha desencadenado la necesidad de intercambio de información fiable para el mejor desarrollo de cultivos piscícolas.

Los costos del alimento balanceado, infraestructura y provisión de semilla, son los problemas que han limitado la producción piscícola, debido a que representan una inversión considerable para pequeños y medianos piscicultores (Perdomo, Castellanos, González y Perea, 2013). Así, el manejo alimentario y el desarrollo de estrategias de restricción alimenticia en especies de mayor interés, como la cachama (*Piaractus brachipomus*), permitirán ser más eficientes en la utilización del alimento al reducir costos de producción y determinar los puntos críticos de un crecimiento compensatorio en respuesta a periodos de ayuno.

Los peces a diferencia de otros vertebrados que son producidos para alimentación, son animales poiquilotermos, es decir dependientes metabólicamente de su contexto ambiental (García y Rodríguez, 2016). Y están adaptados a periodos sin alimentación en condiciones naturales, principios que generan estrategias diferenciadas en cuanto a su manejo productivo, de las cuales hay que aprovechar para hacer un cultivo más eficiente (Suárez *et al.*, 2010).

La restricción alimenticia en los peces, es un período de no ingesta de nutrientes que genera que los procesos vitales se sustenten debido a las reservas energéticas (lípidos, proteínas y carbohidratos) en depósitos hepáticos y musculares que se acumulan durante periodos de disponibilidad de alimento, lo cual es muy común en los peces de hábitat natural debido a

que usualmente son sometidos a largos periodos de ayuno por diferentes causas, motivo por el cual, adaptaron movilizar sus componentes corporales como fuente de energía para su supervivencia (Zamudio y Landines, 2018).

1.1. Problema de Investigación

Ecuador busca alcanzar la seguridad alimentaria de la población principalmente rural y amazónica, por medio de la producción piscícola que actualmente experimenta un rápido crecimiento, pero con un limitado conocimiento sobre su manejo. En la piscicultura el alimento balanceado representa uno de los mayores rubros del costo de producción, en este entorno, la restricción de alimento en la cachama, con la incorporación *B. subtilis* puede constituir una buena alternativa para mitigar los costos. Sin embargo, se desconoce su efecto en condiciones de la Amazonía ecuatoriana.

1.2. Formulación del problema

Las cachamas en la categoría juvenil muestran un efecto significativo del crecimiento compensatorio, al incluir en la dieta *B. subtilis* bajo distintos periodos de restricción alimentaria.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la restricción de alimento en cachama (*Piaractus brachypomus*), con la adición de *Bacillus subtilis* en la dieta.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el crecimiento compensatorio mediante indicadores productivos ganancia de peso (GP), conversión alimenticia (CA), eficiencia alimenticia (EA), índice de condición (K) y supervivencia (S) en respuesta a distintos periodos de restricción de alimento en la cachama.
- Analizar la influencia de la restricción de alimento en la movilización del contenido proteico, lipídico del hígado y músculo en cachamas juveniles.

- Determinar el efecto de *Bacillus subtilis* en cachamas juveniles sometidas a diferentes períodos de restricción de alimento mediante su perfil hematológico (glóbulos rojos y blancos).

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Generalidades

Según la FAO (2018) a lo largo de las últimas décadas la producción acuícola está creciendo paulatinamente, demostrando que la carne de pescado para el consumo, en el año 1974 alcanzaba solo el 7 % de producción, mientras que en el año 2004 alcanzó un 39% de carne para satisfacer la demanda, consiguiendo superar a la captura de pesca en el año 2014, con una producción de 73,8 millones de toneladas, equivalente a un 47%.

Este auge en el crecimiento de la producción acuícola se debe mayormente por la seguridad alimentaria en la población, debido a su alto valor nutricional en proteína, aminoácidos, y su bajo contenido calórico (FAO, 2016).

Ecuador es un país que cuenta con una situación geográfica y condiciones climáticas adecuadas para desarrollar actividades acuícolas; por cuanto se han establecido cultivos de camarón, tilapia, cachama, trucha entre las principales productos acuáticos que satisfacen la demanda de los mercados, además se expanden los cultivos de peces nativos amazónicos como el paiche, bagre, bocachico sábalo, llegando hacer alternativas viables y rentables (Alió, Bravo, Lucas y Miele, 2015).

2.2. Crecimiento

El crecimiento es el incremento de peso o aumento de tamaño que un individuo adquiere desde que inicia su etapa prenatal en la formación del cigoto, y finaliza cuando alcanza su peso adulto y conformación corporal, dado por el incremento del número de células (hiperplasia) o por el aumento del volumen de las células (hipertrofia) (Mommsen, 2001).

Este proceso se ve afectado por factores bióticos como su disponibilidad, la composición de los alimentos, el estado de salud de los peces, la edad, el sexo, entre otros y los factores abióticos como la temperatura, la salinidad, que durante el cultivo pueden influir en el estado fisiológico de los peces, afectar la digestión y la transformación química de los nutrientes, interrumpiendo el crecimiento (Hernández, Hurtado y Peña, 2019).

2.3. Regulación de consumo

Pérez *et al.* (2018) definen que la regulación de consumo se realiza a nivel del hipotálamo en el cerebro, influenciada por hormonas y proteínas que ajustan la respuesta hormonal a cambios ambientales y nerviosos. Entre las hormonas encargadas de la respuesta a la regulación de consumo o ayuno se mencionan las siguientes: GH (Hormona del crecimiento), GHR (receptoras de GH) y las IGF's (Inhibidores de crecimiento); y proteínas como las: IGFBP (Proteínas de unión del IGF) E IGF-1R (Receptora de IGFBP). Los cuales generan estímulos que se mencionan a continuación: orexigénicos que son los promotores del consumo de alimentos, como el Neuropeptido "Y", la orexina y la galanina; y anorexigénicos que son los que inhiben el consumo de alimentos como la colecistoquinina, la expresión regulada por cocaína y anfetamina, y el factor liberador de corticotropina (Zamora *et al.*, 2009).

La leptina es una hormona peptídica sintetizada en el tejido adiposo y liberada al torrente sanguíneo en proporciones definidas hasta llegar al hipotálamo, encargado de inhibir la actividad de los estímulos orexigénicos cuando el individuo ha sido alimentado y favorecer la actividad de los estímulos anorexigénicos cuando atraviesa un periodo de restricción alimentaria (Pérez, 2018).

2.4. Metabolismo

Despaigne, Cobián, Calá, Bonaventure y Domínguez (2012) describen al metabolismo como el proceso de transformación de energía para la conservación y reproducción de las células dentro de un organismo vivo, a través de reacciones químicas segregadas absolutamente con precisión, en todas las formas de vida desde algas unicelulares hasta mamíferos durante las fases de crecimiento y desarrollo.

2.5. Restricción alimentaria

La restricción alimenticia es un evento temporal, por el cual, las posibilidades del animal de adquirir alimento son limitadas, ya sea, en cantidad o en calidad (Rodríguez, 2012).

La restricción alimenticia o ayuno de los peces, es un período de no ingesta de nutrientes que genera que los procesos vitales se sustenten debido a las reservas energéticas (lípidos,

proteínas y carbohidratos) en depósitos hepáticos y musculares acumuladas durante periodos de disponibilidad, lo cual es muy común en los peces de estado natural debido a que usualmente son sometidos a largos periodos de ayuno por diferentes causas; así, adaptaron movilizar sus componentes corporales como fuente de energía para su supervivencia (Zamudio y Landines, 2018); así el ayuno tiene implicaciones sobre la cascada hormonal de regulación de la ingesta de alimentos.

Pérez (2018) describe que en su mayoría las especies reófilicas experimentan eventos temporales de ayuno, debido a la búsqueda de las condiciones ideales para su reproducción. Por su parte Tovar, Rabello, Zuanon y Farias (2014) explican que los machos de *Osteoglossum bicirrhosum* (arawanas) protegen a sus crías, motivo por el cual restringen su alimentación y en compensación movilizan sus componentes corporales como fuente de energía para su supervivencia.

Riaño, Landines y Díaz (2011) mencionan que la aplicación de estrategias de restricción alimenticia, durante días previos al faenamiento, da impulso al proceso de degradación de nutrientes hasta alcanzar la extracción energética y su disponibilidad, además ayuda en la movilización de los lípidos, logrando mejorar la calidad de la canal tanto en dorada (*Sparus aurata*) y en salmón (*Salmo salar*).

La aplicación de la restricción alimenticia como estrategia favorece el manejo productivo, al contribuir de manera eficiente el aprovechamiento del alimento, además permite reducir agresiones a causa de competencias sociales e incrementos desproporcionados de tamaño y asegurar una alta de supervivencia (Perdomo *et al.*, 2013).

2.6. Crecimiento compensatorio

El crecimiento compensatorio dentro del animal, es el aumento acelerado de su crecimiento al reiniciar su disponibilidad alimenticia, luego de un período de ayuno, donde su respuesta está influenciada por la composición de la dieta, el sexo, su estado de madurez, la severidad de la restricción alimentaría, la temperatura y la calidad del agua (Gómez, Vásquez y Valencia, 2016). Como ejemplo se tiene, que en el caso de juveniles de *Brycon amazonicus* se adaptaron a periodos de ayuno sin comprometer relevada mente su homeóstasis, sus cambios fisiológicos y metabólicos, además la principal fuente de energía usada fue el

glucógeno hepático al ser expuestos por doce semanas a periodos de restricción alimenticia (Zamudio y Landines, 2018).

Yang y Jeong-Yeol (2012) recomiendan como una herramienta estratégica el crecimiento compensatorio, debido a que reduce los costos de producción, al mejorar la eficiencia en la conversión alimenticia y al optimizar la tasa de crecimiento.

2.7. Probiótico

World Gastroenterology Organisation (2017) define a un probiótico como un suplemento alimenticio integrado por una alta carga microbiana capaz de afectar y disminuir las bacterias intestinales patógenas e incrementar la población bacteriana beneficiosa, por ende, beneficiar al organismo.

Newaj, Al-Harbi y Austin (2014) mencionan que en el campo acuícola se ha establecido el uso de los géneros *Vibrio*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, como probióticos.

García, Gutiérrez y David (2015) describen que los probióticos actúan dentro de sus hospedantes a través de diferentes mecanismos, descritos a continuación:

3. Ejercen procesos antagónicos contra los microorganismos patógenos, al producir compuestos inhibidores de su locomoción y proliferación,
4. Protegen la mucosa intestinal al colonizar el intestino y rivalizar el espacio al competir contra los microorganismos patógenos,
5. Contribuyen la producción de anticuerpos, enzimas y péptidos microbianos, estimulando el sistema inmune,
6. Favorecen la degradación del alimento y la absorción de nutrientes en el tracto gastrointestinal del hospedante, gracias a la producción de suplementos enzimáticos.

2.8. *Bacillus subtilis*

Es una bacteria probiótica ha sido empleada en animales acuáticos, mediante la conjugación del alimento balanceado o vivo, no presenta toxicidad en los huéspedes más bien emerge como solución al crecimiento, a las infecciones y a la tensión, brindando un incremento en los parámetros productivos, reducción de los bajos índices de supervivencia y elevados niveles de estrés (Guidoli, Hernández, Boehringer, Sánchez y Nader, 2016).

B. subtilis se desarrollan en ambientes aerobios y anaeróbicos, presentando un corpúsculo que tiene la capacidad de resistir condiciones adversas como un pH alto, irradiación UV, temperaturas altas, disolventes y largos periodos de almacenamiento sin refrigeración; además, posee propiedades como la facilidad de utilizar nutrientes para su crecimiento, una elevada producción de enzimas y la secreción de compuestos antimicrobianos (Olmos y Paniagua, 2015).

2.9. Cachama

La cachama blanca *Piaractus brachypomus* es una especie reófila, originaria de la cuenca Amazónica y del Orinoco (Abad, Rincón y Poleo, 2014). Posee cualidades que le hacen única, como su rusticidad que le permite tolerar condiciones medioambientales desfavorables y adaptarse con factibilidad, posee un rápido crecimiento y tiene un hábito alimenticio omnívoro, sin olvidar su demanda en el mercado (Felipa, Blas y Alcántara, 2017).

Gómez *et al.*, (2016) aplicaron diferentes frecuencias de alimentación y de ayuno, para comprender el aprovechamiento nutritivo en el crecimiento de alevinos de *Piaractus brachypomus* a lo largo de 150 días, sugiriendo la aplicación de estrategias cortas de restricción alimenticia, debido, a que no hay afectaciones en su crecimiento, ni en sus parámetros nutritivos y económicos.

Otro ejemplo por parte de Rodríguez y Landines (2011) mencionan en el caso de juveniles de *P. brachypomus* no limitaron su crecimiento y no ocurrieron cambios fisiológicos notables, al ser expuestos por ocho semanas a periodos de restricción alimenticia.

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

La ejecución del proyecto se llevó a cabo en el Programa de Recursos Acuáticos del Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica (CIPCA), ubicado en la Región Amazónica Ecuatoriana, localizada entre las provincias de Pastaza y Napo, cantones Santa Clara y C.J. Arosemena Tola, con una altitud promedio de 561 m.s.n.m., 01° 18' 00" de latitud Sur y 77° 52' 59,88" de longitud Oeste junto a la desembocadura de los ríos Piatúa y Anzu, a una altura de 561, a temperatura oscila entre los 15 a 25 °C, pluviosidad de 4 000 mm anuales y humedad relativa entre el 80% (CIPCA, 2018).

3.2. Tipo de investigación

La investigación fue de tipo experimental en la cual se evaluó el efecto de la restricción de alimento y respuesta del comportamiento compensatorio en la cachama (*P. brachypomus*) con la adición de *B. subtilis* en la dieta.

3.3. Métodos de investigación

3.3.1. Selección de ejemplares

Para el manejo de la restricción alimentaria se seleccionó ejemplares de cachama conforme a la categoría juvenil, 144 peces, con un peso promedio de $222,29 \pm 38,26$ g y $18,33 \pm 1,18$ cm de longitud. El material experimental se obtuvo de la empresa Peces Tropicales del cantón Lago Agrio.

3.3.2. Manipulación del cultivo experimental

Se utilizaron dos estanques cubiertos con geomembrana con el fin de evitar la infiltración del agua. El primer estanque fue utilizado por los animales con la adición de la dieta sin *B. subtilis*, mientras el segundo estanque fue utilizado por los animales con la dieta adicionada con *B. subtilis*. Los animales permanecieron en jaulas flotantes de 0,80 m x 0,80 m (0,64 m²), las cuales llegaron a ser colocadas en las orillas de los estanques para facilitar la

administración del alimento. Las jaulas fueron elaboradas con tubos PVC de 0,5” y red de 1 pulgada.

El experimento tuvo una duración de 30 días, tiempo en el cual se suministró el alimento conforme a los tratamientos en un rango máximo del 3 % de la biomasa (según los protocolos de manejo usual por parte de productores piscícolas), conjuntamente con la adición del probiótico (*B. subtilis*) a una dosis de 0,5 g / 1000 g de alimento y aceite de pescado 1 g / 1000 g, se distribuyó dos veces al día.

La dieta proporcionada tiene el siguiente análisis químico, tabla 1.

Tabla 1. Análisis químico de la dieta

Parámetros	%
Humedad (máx.)	12
Proteína (min.)	28
Grasa (min.)	3
Ceniza (máx.)	13
Fibra (máx.)	9

Fuente: ABA Ecuador (2019)

A continuación, se describe los tratamientos evaluados en la tabla 2.

Tabla 2. Tratamientos

Tratamientos	Descripción
T1prob	Alimentación con probiótico durante 6 días y ayuno de 1 día
T1sprb	Alimentación sin probiótico durante 6 días y ayuno de 1 día
T2prob	Alimentación con probiótico durante 4 días y ayuno de 3 días
T2sprb	Alimentación sin probiótico durante 4 días y ayuno de 3 días
T3prob	Alimentación con probiótico durante 2 días y ayuno de 5 días
T3sprb	Alimentación sin probiótico durante 2 días y ayuno de 5 días
Cprob	Alimentación con probiótico durante 7 días
Csprb	Alimentación sin probiótico durante 7 días

3.3.3. Toma de muestra

3.3.3.1. Indicadores productivos

Se realizó mediciones de la ganancia de peso, conversión alimenticia, eficiencia alimenticia, tabla 3.

Tabla 3. Indicadores productivos

Variable	Ecuación	Interpretación
Ganancia de peso	$GP = Pf - Pi$	Pf = peso final Pi = peso inicial
Conversión alimenticia	$CA = I / GP$	I = ingestión total de alimento GP = ganancia de peso
Eficiencia alimenticia	$EA = GP / I * 100$	GP = ganancia de peso I = ingestión total de alimento

Fuente: Fracalossi y Cyrino (2012)

3.3.3.1.1. Índice de condición

Según Bonilla, Mayer, Estruch y Jover (2017) describen que el índice de condición es utilizado para apreciar el bienestar del pez o su población, en base de su longitud y peso, la cual se ejecutó mediante la ecuación propuesta por (Felipa *et al.*, 2017):

$$K = W/L^3,$$

Dónde:

K = factor de condición

W = el peso en gramos

L = longitud en cm

3.3.3.1.2. Supervivencia

Se ejecutó la ecuación respectiva para determinar el porcentaje de supervivencia, descrita por (Brú, Pertúz, Ayazo, Atencio y Pardo, 2017).

$$S = (Nf - Ni) * 100,$$

Dónde:

S = Supervivencia

Nf = Número final de peces

Ni = Número inicial de peces

3.3.3.2. Variables morfométricas

Al culminar el período de experimentación se sacrificó los ejemplares para obtener su peso corporal y del hígado, que permitieron definir las variables morfométricas como:

3.3.3.2.1. Índice hepatosomático

El índice hepatosomático se realizó para conocer las reservas energéticas del pez, por medio de la ecuación descrita por (Abad et al., 2014)

$$IHS = (PH / PF) * 100$$

Dónde:

PH = Peso del hígado en gramos,

PF = Peso final o corporal en gramos

3.3.4. Análisis de laboratorio

Al finalizar las cuatro semanas de experimentación, fueron sacrificados 72 ejemplares con la ayuda del analgésico (Eugenol), para reducir los niveles de estrés en el animal. Se extrajo 1 ml de sangre obtenida de la vena caudal (Ligña *et al.*, 2018) empleando jeringas desechables de 3 ml impregnadas con heparina (anticoagulante).

Además, se extrajo tejido hepático y muscular siendo conservadas en congelación a $- 0^{\circ}\text{C}$, por los días siguientes, mientras que las muestras de sangre se almacenaron en refrigeración a 7°C , para sus respectivos análisis bromatológicos y hematológicos, descritos a continuación:

3.3.4.1. Análisis proximal

Se realizó el análisis proximal de acuerdo con la metodología establecida por (AOAC, 1984). El contenido de proteína se obtuvo por el método de Kjeldahl, descrita por (Lanza, Churión

y Gómez, 2016) a través del equipo digestor el cual involucra procesos de digestión ácida con ácido sulfúrico concentrado y su posterior destilación recogida con ácido bórico al 2%, luego la titulación con ácido sulfúrico al 0,2 % para conocer el contenido de nitrógeno y determinar el nivel proteico por medio de la siguiente fórmula, basada en un protocolo gravimétrico:

$$P = V * N * F * 0.014 / M * 100,$$

Dónde:

P = Contenido de proteína en %

V = ácido sulfúrico consumido en ml

N = Normalidad del ácido (0,2)

F = Factor para convertir el contenido de nitrógeno a proteína (6,25), según (Bai, Reddy y Sivashankar, 2015).

M = Peso de muestra en gr

La determinación de lípidos crudos se obtuvo por medio del método de Soxhelt, descrita por (Polo, 2012), donde se trabajó con muestras previamente secas y encartuchadas, las cuales fueron sometidas al equipo de Soxhelt, agregando el solvente éter de petróleo para lograr extraer el contenido de grasa y apreciar el contenido de grasa por medio de la siguiente fórmula, basada en un protocolo gravimétrico:

$$G = M1 - M2 / M * 100$$

Dónde:

G = Contenido de grasa (%)

M1 = Peso del balón + grasa extraída (g)

M2 = Peso del balón vacío (g)

M = Peso de muestra desengrasada (g)

3.3.4.2. Análisis hematológico

Previo a la extracción de sangre, cada organismo fue pesado (g) y medido (cm), seguidamente de la toma de sangre 1 ml, para el análisis hematológico.

El análisis hematológico se realizó por medio de una distribución del análisis por series como línea roja: todo relacionado a glóbulos rojos encargadas del transporte de oxígeno; línea blanca: células blancas encargadas de la inmunidad. El contenido de hematocrito se

determinó al utilizar el método de microhematocrito, con una pequeña muestra de sangre en capilar de 75 mm de longitud y diámetro interno de 1,1 mm, sellado al borde inferior con jabón neutro y centrifugación a 12.000 rpm por 2 minutos, la medición fue por medio de una regla milimétrica desde el borde superior del plasma hasta el inicio de la columna de eritrocitos, expresando los resultados en porcentaje (%). Posteriormente se utilizó la metodología de cálculo, para determinar los niveles de hemoglobina (Hb) en g/dl, por medio de la siguiente ecuación, descrita por (Cerón, 2014).

$$Hb = H / 3,$$

Dónde:

Hb = Hemoglobina

H = Hematocrito

Para determinar el diferencial leucocitario, se realizaron frotis sanguíneos por duplicados, que fueron teñidos con Tinción Wright (Ligña *et al.*, 2018). Una vez teñidos los frotis el recuento diferencial se realizó en un microscopio óptico y se contó las células hasta un total de cien, con la ayuda del equipo de recuento celular. Los leucocitos observados fueron clasificados en linfocitos, neutrófilos, monocitos y eosinófilos. Los resultados se expresaron en porcentajes (%) de células según cada población leucocitaria.

3.4. Diseño de la investigación

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) simple, con ocho tratamientos, tres réplicas dentro de cada tratamiento, a su vez cada repetición constó de seis peces.

3.5. Factores de estudio

Variables dependientes	Variables independientes
Ganancia de peso	Tratamiento 1 + probiótico
Tasa de conversión alimenticia	Tratamiento 2 + probiótico
Eficiencia alimenticia	Tratamiento 3 + probiótico
Índice de condición	Control + probiótico
Supervivencia	Tratamiento 1 sin probiótico
Índice hepatosomático	Tratamiento 2 sin probiótico
Perfil hematológico (células blancas, células rojas y hemoglobina)	Tratamiento 3 sin probiótico
Contenido de proteína y grasa en el músculo e hígado	Control sin probiótico

3.6. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza ANOVA, seguido de una prueba de medias de Tukey, con ($p < 0,05$). Los análisis se realizaron con el programa SPSS versión 25.

3.7. Recursos humanos y materiales

3.7.1. Recursos humanos

Responsable del proyecto de peces (1)

Trabajador del área (1)

Responsables de los laboratorios de la UEA (2)

Estudiantes (2)

Tutor (1)

3.7.2. Recursos materiales

Tabla 4. Materiales

Material Biológico	Equipo de pesca e instalaciones	Equipo de Laboratorio	Materiales	Reactivos
Juveniles de cachama, Probiótico (<i>Bacillus subtilis</i>)	Estanques, jaulas flotantes, redes	Termómetro, porta y cubre objetos, microscopio, pipeta de 1000µl, tubos capilares, balanzas, equipo Soxhelt, digestor	Libreta, esfero, marcador, adhesivos, papel absorbente, bandeja	Soluciones de conteo de células sanguíneas, Solventes para bromatología: Éter de petróleo Ácido sulfúrico

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ensayo experimental se realizó para evaluar el efecto de la restricción de alimento en cachama *P. brachypomus*, con la adición de *B. subtilis* en la dieta, con una ración estimada del 3% de la tasa de ingesta. Durante el experimento no hubo mortalidad y estuvo sometido a temperaturas descritas en la tabla 5.

Tabla 5. Temperatura durante el ensayo experimental

Semana	Temperatura ° C	
	Mañana	Tarde
3 - 9 junio	22, 57 ± 0,53	25,29 ± 0,49
10 – 16 junio	22,43 ± 0,79	25,00 ± 0,58
17 – 23 junio	18,29 ± 2,93	22,71 ± 1,80
24 – 30 junio	20,43 ± 2,57	23,29 ± 1,11

4.1. Indicadores productivos

Se realizaron tres mediciones, al inicio, a los 14 y 28 días del experimento, obteniéndose los siguientes resultados:

4.1.1. Ganancia de peso

El gráfico 1 muestra que todos los animales del experimento incrementaron su peso durante el ensayo, atribuible a la juventud de los alevinos. La dispersión de los datos que se observa en el gráfico de barras, analizadas mediante ANOVA evidenciando diferencias estadísticas. A los 28 días, la mejor ganancia de peso obtuvo el T1 con *B. subtilis* (6 días de alimentación y 1 de ayuno), en cambio el T3 con *B. subtilis* (2 días de alimentación y 5 de ayuno) obtuvo un bajo peso.

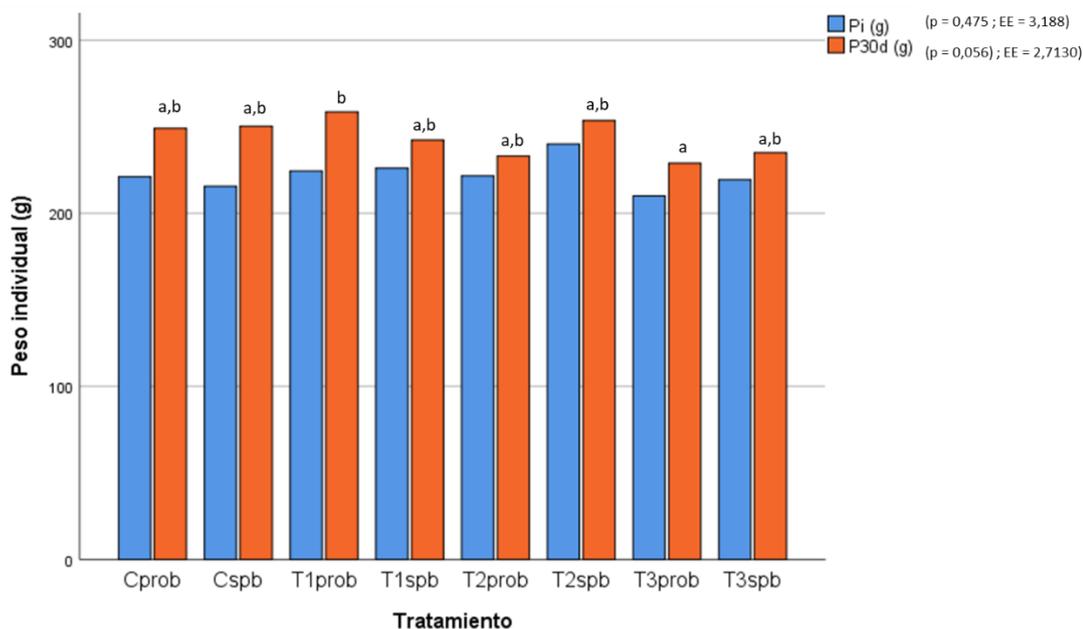


Gráfico 1. Evolución de la ganancia de peso en *P. brachypomus* durante el experimento

Nota: las letras señalan grupos estadísticos diferentes según el Test de Tukey a los días 1 y 30 respectivamente. Pi= peso inicial y P30d= peso a los 30 días.

Al considerar la biomasa, el ANOVA no detecta diferencias significativas entre tratamientos, reflejado en el gráfico 2.

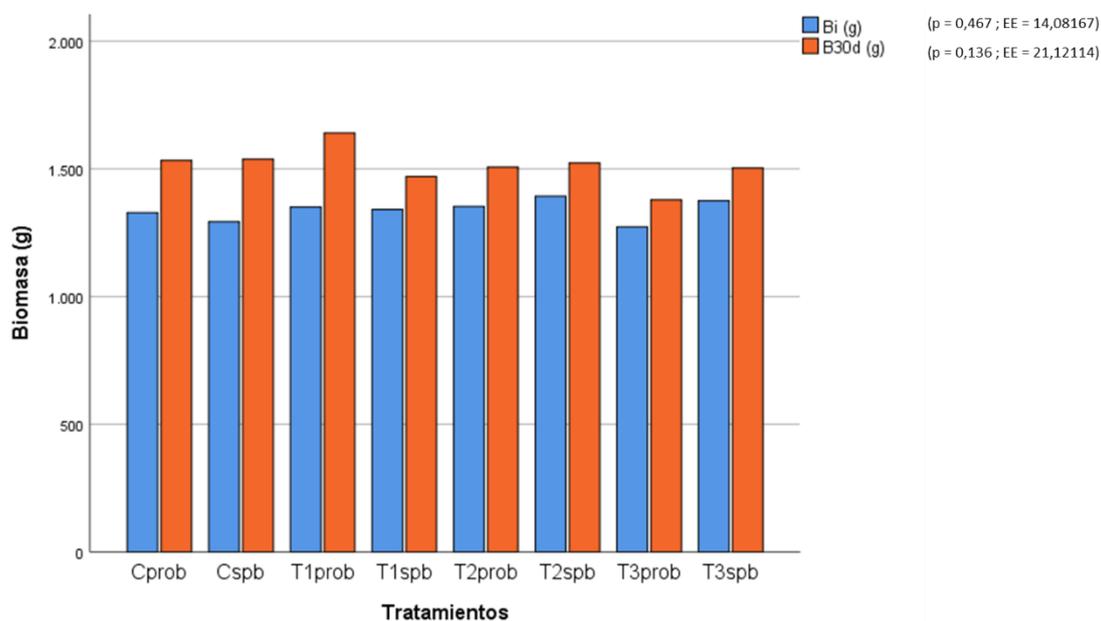


Gráfico 2. Biomasa de *P. brachypomus* durante el ensayo experimental

Los resultados de incremento de peso, muestran que no hubo diferencias significativas para este parámetro. Al comparar los valores obtenidos en *P. brachypomus* por Rodríguez (2012)

que trabajó con juveniles de $58,40 \pm 6,56$ g con uno, dos y tres días de ayuno y uno, dos y tres días de alimentación respectivamente, se observó que su ganancia de peso fue inferior, aunque cabe resaltar que el tiempo de ese experimento fue el doble al de esta investigación. Lo que repercute *B. subtilis*, denotando resultados superiores a lo obtenido del experimento de Salinas (2019), quien trabajó con peces de 156,25 g de peso con alimentación diaria. Además Hualinga (2013) obtuvo una ganancia de peso mayor al trabajar con una dosis de 6 ml/kg del probiótico comercial EM-AGUA (mezcla de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus casei* con *Saccharomyces cerevisiae*) en alevinos de *P. brachypomus*.

4.1.2. Conversión alimenticia

El ANOVA respecto a la TCA, en el gráfico 3 no detecta diferencia significativa. Se observó que durante el periodo experimental la tasa de conversión alimenticia considerada más eficiente estuvo en el T3 con y sin *B. subtilis*. Así, se puede mencionar que a mayor restricción alimenticia mayor absorción de nutrientes como adaptación a los períodos de ayuno. También resalta el T2 prob en la eficacia de la conversión, debido al aprovechamiento del alimento reflejado en su ganancia de peso, con respecto a los diferentes tratamientos.

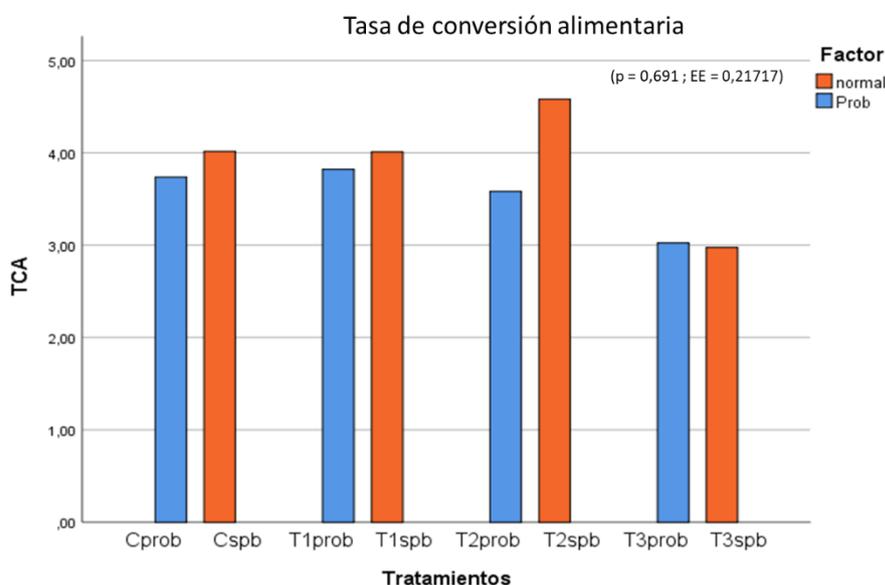


Gráfico 3. Tasa de conversión alimenticia en *P. brachypomus* durante el ensayo experimental

Una vez calculado los índices de eficiencia alimentaria, el ANOVA realizado para estos datos, expuestos en el gráfico 4, muestra que no hay diferencias significativas entre los tratamientos, siendo el factor experimental más importante el ayuno sobre la aplicación del probiótico.

4.1.3. Eficiencia alimenticia

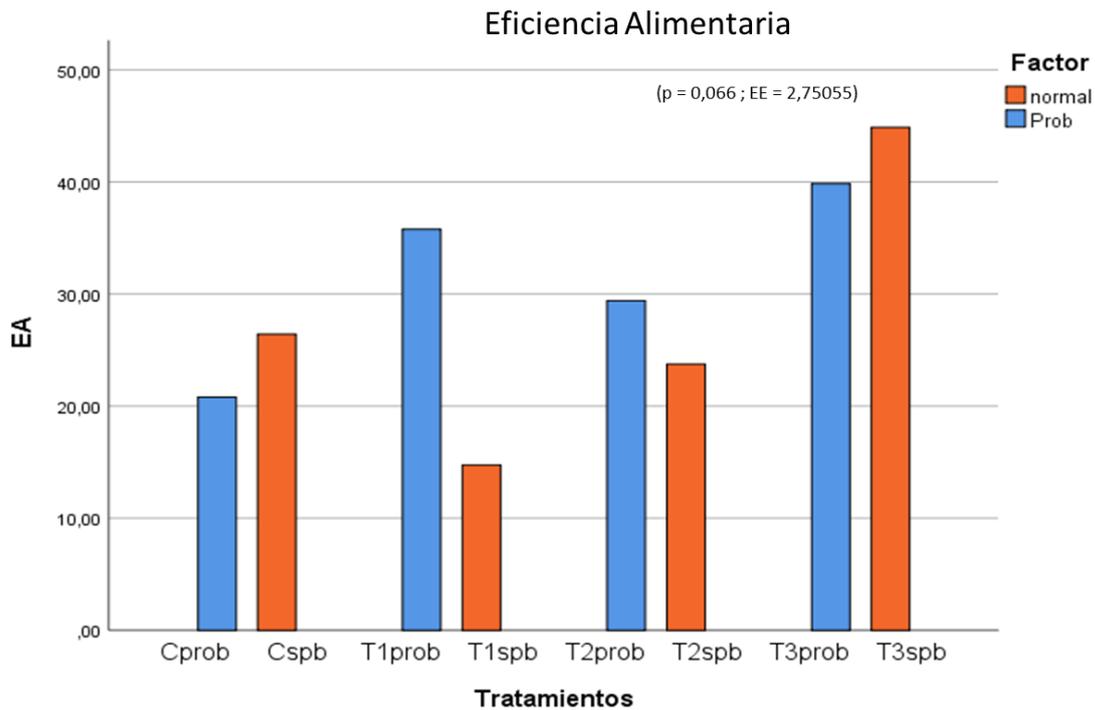


Gráfico 4. Eficiencia alimenticia en *P. brachypomus* durante el ensayo experimental

El ensayo determinó que juveniles de *P. brachypomus* exigen una mayor cantidad de alimentación comparado con el resultado de Contreras y Canchilla (2012). Muñoz (2018), también reporta una mejor TCA en *Oreochromis niloticus*, cultivado en sistemas de bioflocs (BFT). Así mismo, Perdomo *et al.* (2013) indican una TCA mejor con *Oncrohynchus mykiss*. Anastacio (2016) reporta en *P. brachypomus* un índice de conversión semejante al T3 con y sin *B. subtilis* por su eficiencia en la conversión alimenticia. En efecto Tueros (2018) afirma que la categoría y el peso del animal influye en el índice de conversión alimenticia, además que se pudieron dar interacciones de la temperatura ambiental sobre la tasa de ingesta.

4.1.4. Índice de condición

Al realizar el análisis de índice de condición (K) representado en el gráfico 5, se observa que al inicio y después del experimento no presentaron diferencias significativas, es decir, que los animales llegaron a tener un bienestar homogéneo. Pero al finalizar el ensayo se observa un descenso de K, esto puede atribuirse al cambio drástico de la temperatura que sufrieron los animales.

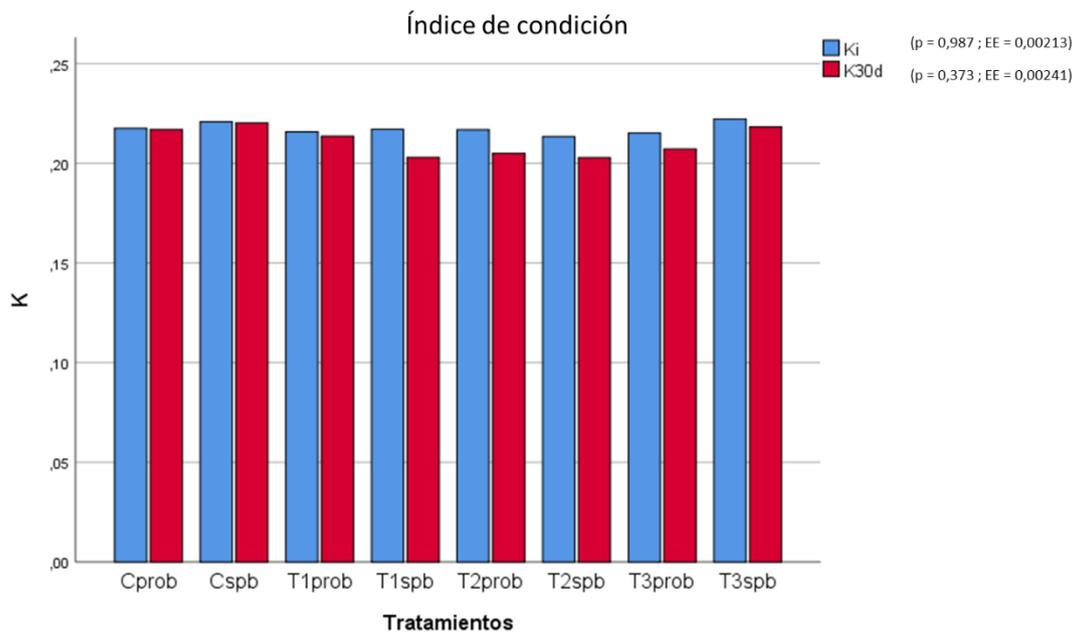


Gráfico 5. Índice de condición en *P. brachypomus* durante el ensayo experimental

Rodríguez y Landines (2011) reportan en juveniles de *P. brachypomus* valores superiores (1,32; 1,44; y 1,36 a uno, tres y dos días de ayuno, respectivamente). Al igual que Salinas (2019), obtuvo valores superiores en este parámetro al trabajar con acuarios de 0,50 m de alto y 0,47 m de ancho y con la mitad de individuos (*P. brachypomus*; 156,25 g) por acuario. Tomando en cuenta este aspecto, se comprobó que el hábitat no fue un factor limitante para el índice de condición en el pez. Así Cifuentes *et al.* (2012) afirman que la temperatura es uno de los factores que deben ser considerados para interpretar el índice de condición; es por ello que este índice tuvo un leve descenso como se muestra en el gráfico 5 después de los 15 días cuando la temperatura bajó aproximadamente entre 18 a 20 °C.

4.2. Variables morfofisiológicas

4.2.1. Índice Hepatosomático

Respecto al índice hepatosomático que se presenta en el gráfico 6, al concluir el ensayo se observó que los tratamientos sin *B. subtilis* en la dieta, llegan a tener un hígado levemente más grande en relación a los tratamientos con *B. subtilis*. El ANOVA realizado para este parámetro evidencia que no hay diferencias significativas considerando que mientras hay más ayuno el hígado del pez será de menor tamaño, reflejando un proceso de translocación de nutrientes.

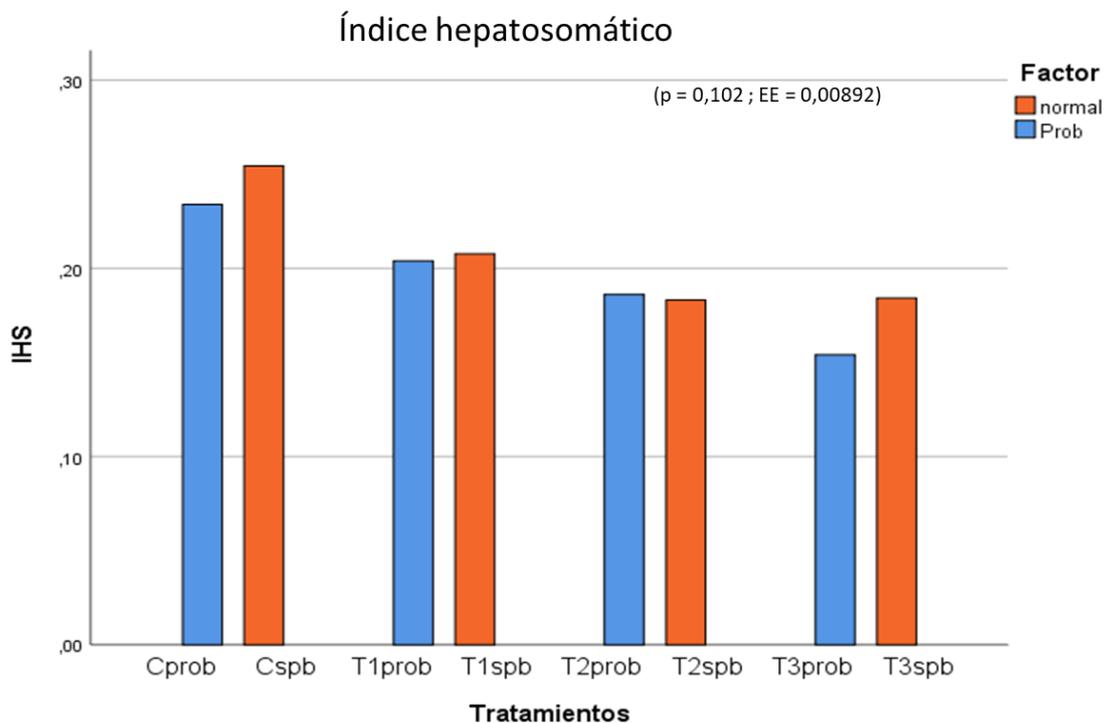


Gráfico 6. Índice hepatosomático en *P. brachyomus* a 28 días del ensayo experimental Hualinga (2013) confirma que el ayuno prolongado obliga a remover fuentes de energía disponibles en el hígado del pez, para su reajuste metabólico homeostático. Así mismo Rodríguez y Landines (2011) al trabajar con juveniles de *P. brachyomus* ($212,58 \pm 12,07$ g) en ayunos prolongados presentaron resultados similares. Pero al trabajar con juveniles de *Oreochromis niloticus* Muñoz (2018) reportó resultados superiores (1.56 ± 0.39).

4.3. Análisis bromatológico proximal

4.3.1. Proteína y grasa en músculo

El análisis de contenido proteico y lipídico en músculo de los peces, se presenta diferencias significativas representadas en el gráfico 7; y, se denota la ayuda de *B. subtilis* en el aprovechamiento del alimento, para que su organismo asimile los nutrientes requeridos y no lo almacene en forma de grasa. Los peces al agotar las reservas hepáticas acuden a las reservas del músculo, donde aprovechan la baja cantidad de lípidos y luego movilizan las proteínas del músculo como último recurso para mantener la homeostasis; así, *P. brachyomus* logra su equilibrio en ayunos prolongados. Por lo cual, el contenido proteico en el músculo es mayor en los tratamientos que incluyen *B. subtilis* en la dieta. Mientras que en el contenido lipídico los tratamientos que incluyen *B. subtilis* en la dieta tienden a descender con el ayuno prolongado. De manera particular, en el contenido proteico del T1 sin *B. subtilis* presenta el mayor valor a pesar de estar en un mismo grupo significativo. En el contenido lipídico del músculo se evidencia el T1 con *B. subtilis* presenta diferencia significativa respecto a los demás tratamientos.

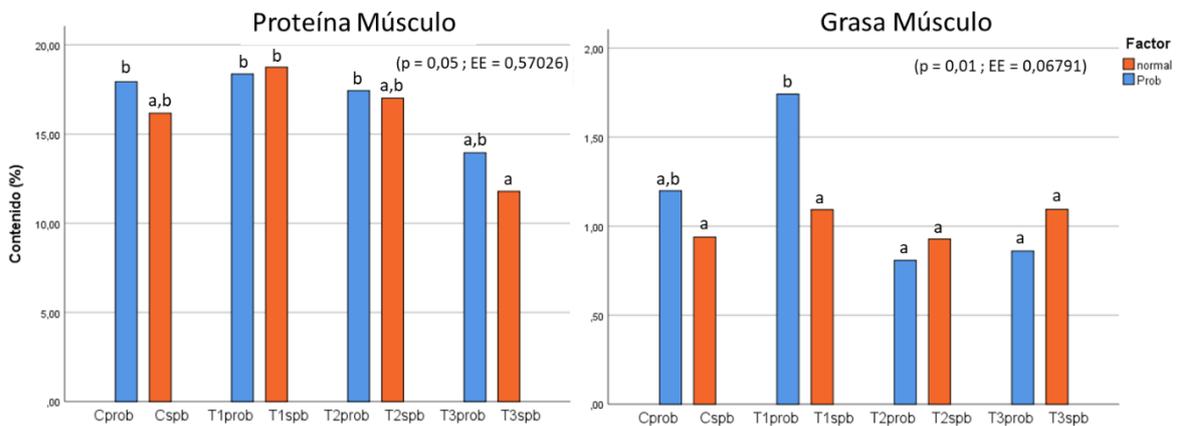


Gráfico 7. Contenido proteico y lipídico del músculo en *P. brachyomus* a 28 días del ensayo experimental

Nota: las letras señalan grupos estadísticos diferentes según el Test de Tukey

4.3.1.1. Contenido de proteína en el músculo

Murthy, Madhusudana, Asha y Prasad (2015) al trabajar con *P. brachyomus* sin probiótico obtuvieron un nivel de proteína inferior al ensayo. Ruiz y Zumaeta (2017) también

reportaron valores inferiores de proteína al someter a *Brycon cephalus* a una alimentación que incluye el probiótico comercial EM-CAMARON (mezcla de *Lactobacillus spp.*, y *Rhodopsudomonas spp* con *Saccharomyces spp*). En cambio Maldonado y Taricuarima (2017) al incluir el probiótico comercial (EM-CAMARON) en *Myleus schomburgkii*, reportan un incremento de su nivel proteico. Se observó a medida que se prolonga el ayuno, las reservas del pez son removidas del músculo sin alcanzar a ser restablecidas. Por el contrario, Gómez *et al.* (2016) presenta una restauración de las reservas al trabajar con 14 días de ayuno y posterior alimentación, evidenciándose el fenómeno de alimentación compensatoria. Igualmente Zeng *et al.* (2014) mostraron una recuperación del contenido proteico, lipídico y carbohidratos al tener un ayuno prolongado y realimentación en *Silurus meridionalis*. Considerando que esta investigación está orientada a generar una posible práctica de manejo del ayuno a nivel comercial, los datos obtenidos en este estudio, de acuerdo a su contraste permiten mencionar que es posible la aplicación rutinaria de ayuno por breves periodos en sistemas de cultivo.

4.3.1.2. Contenido de lípidos en el músculo

Zamudio (2014) afirma que el ayuno prolongado y alterno no afecta el contenido de lípidos en el músculo al igual que este ensayo. Las reservas lipídicas están en cantidades menores para ser utilizadas como fuente de energía, por ello tienden a aprovechar la proteína muscular. Riaño *et al.* (2011) obtuvieron valores superiores de lípidos presentes en el músculo con ayunos prolongados alternos y continuos al trabajar con *P. brachypomus*. Mientras, Hualinga (2013) mostró resultados superiores en el contenido de lípidos en *P. brachypomus*, sometidos a dietas con probiótico comercial EM-AGUA. De igual manera Maldonado y Taricuarima (2017) reportan datos superiores en el contenido de lípidos en el musculo al trabajar con alevinos de *M. schomburgkii* sometidos a la inclusión de diferentes niveles del probiótico comercial EM-CAMARON.

4.3.2. Proteína y grasa en hígado

El periodo de restricción de alimento influyó en el contenido de proteína y lípidos, ya que los ejemplares que soportaron el ayuno prolongado movilizaron en primera instancia las reservas energéticas que almacena el hígado, al ser el principal órgano fuente de reservas del pez. Mediante el ANOVA, en el gráfico 8 se observa que hubo diferencias significativas en el contenido proteico del hígado de los peces. Este parámetro llega a ser mayor en los

tratamientos que incluyen *B. subtilis* en la dieta. Particularmente se observó que el T1 prob tiene el valor más elevado y el T3 sprb el menor valor.

Mientras que en el contenido lipídico los tratamientos que incluyen *B. subtilis* en la dieta tienden a descender con el ayuno prolongado, mientras los tratamientos sin *B. subtilis* incrementan su contenido lipídico, llegando a alcanzar el mayor valor el T3 sin *B. subtilis*.

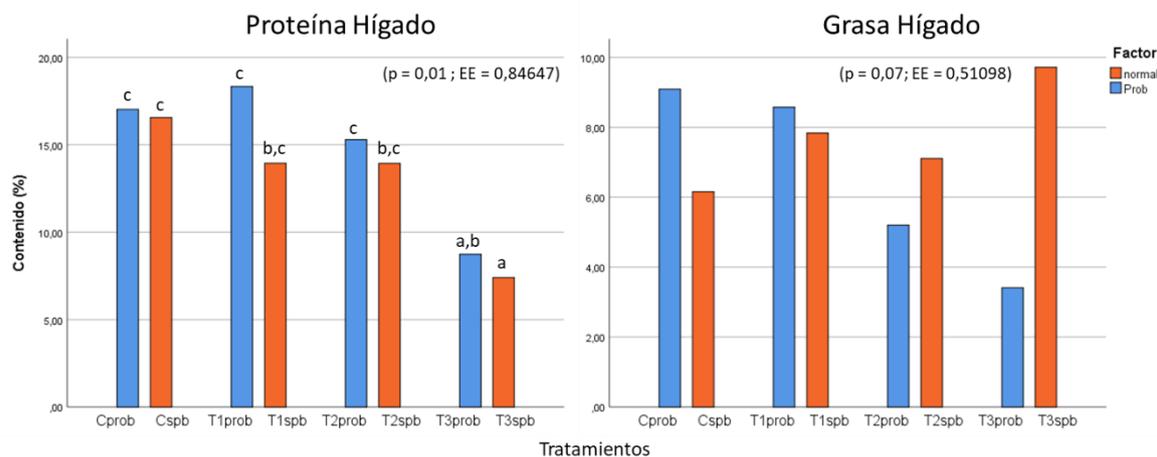


Gráfico 8. Contenido proteico y lipídico del hígado en *P. brachyomus* a 28 días del ensayo experimental

Nota: las letras señalan grupos estadísticos diferentes según el Test de Tukey

4.3.2.1. Contenido de proteína y lípidos en el hígado

Al no proporcionar *B. subtilis* en la dieta de *P. brachyomus*, se observa un incremento de lípidos y glucógeno en el hígado para ser utilizados como reserva energética para su reajuste fisiológico y metabólico, comportamiento parecido a lo alcanzado por Wang, Chen, Wang y Ye (2017), sin embargo, al incrementar el ayuno hay un aprovechamiento drástico de la proteína del hígado, resultado similar al obtenido por Zamudio (2014) en *Brycon amazonicus*. Mientras con *B. subtilis* el contenido lipídico descende, Martínez (2011) afirma que al incluir en la dieta un probiótico, el aprovechamiento de las reservas de nutrientes en el hígado incrementan supliendo los procesos fisiológicos (homeostasis, metabolismo) al prolongarse los días de ayuno. Rodríguez y Landines (2011) indican que los peces acudieron a las reservas energéticas almacenadas principalmente en el hígado a medida que el ayuno se prolonga, resultado similar al ensayo; así, el IHS es inferior, ocasionando que el hígado presente una menor morfometría, al trabajar con *P. brachyomus*.

4.4. Análisis hematológico

Se realizaron frotis sanguíneos por duplicados, que fueron teñidos con Tinción Wright (Ligña *et al.*, 2018). Una vez teñidos los frotis el recuento diferencial se realizó en un microscopio óptico a 100x, y se realizó un conteo rápido de las 72 muestras, con la ayuda del equipo de recuento celular. Donde se observó cuatro de las células leucocitarias, estas fueron clasificadas en linfocitos, neutrófilos o heterófilos, monocitos o macrófagos, y eosinófilos. Las células mencionadas se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Porcentaje de leucocitos

Tratamientos	Tipos de células			
	Neutrófilos	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos
T1prob	35	58	5	3
T2prob	39	55	3	3
T3prob	58	35	5	2
Cprob	48	41	4	3
T1sprb	52	41	3	3
T2sprb	59	33	4	2
T3sprb	54	41	3	2
Csprb	53	42	2	2

4.4.1. Análisis de línea roja

El contenido de hemoglobina y hematocrito presentó diferencias significativas entre tratamientos, observados en la gráfica 9. Duque y Loaiza (2017) y Garay (2010) establecen el rango óptimo de la hemoglobina ($10,4 \pm 1,46$) y hematocrito ($28,71 \pm 5,08$) en juveniles de cachama, que al comparar con los resultados obtenidos en este ensayo se observó que la mayoría de los tratamientos están dentro de este rango. En cuanto al contenido de hematocrito entre los tratamientos y el rango referencial, el T3 sin *B. subtilis* es superior, mientras el T1 sin *B. subtilis* presenta inferioridad. En relación a la hemoglobina, se presentó un comportamiento similar debido a que ésta es la proteína de los glóbulos rojos.

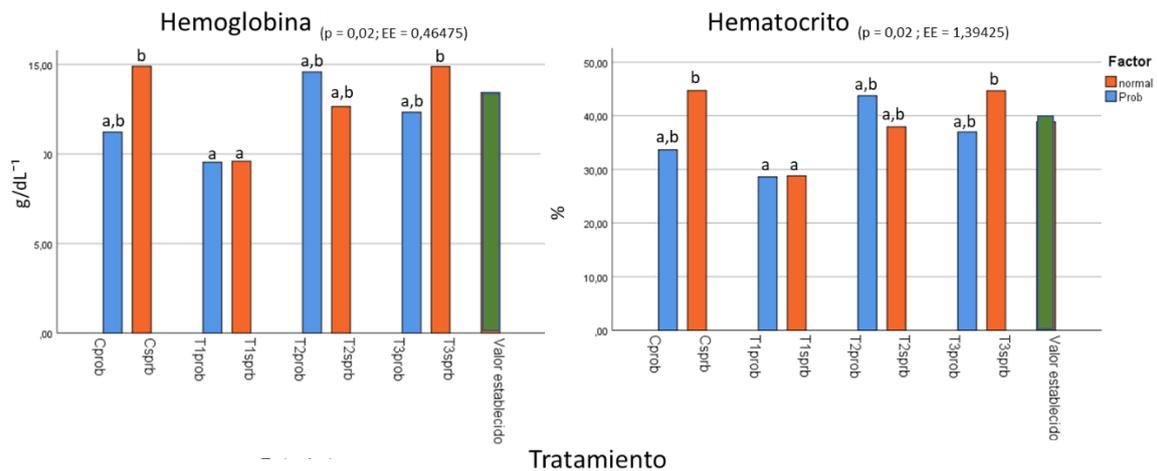


Gráfico 9 . Contenido de hemoglobina y hematocrito en *P. brachypomus* a 28 días del ensayo experimental

Nota: las letras señalan grupos estadísticos diferentes según el Test de Tukey y el espacio de color es considerado como el rango óptimo.

La suplementación de *B. subtilis* en la dieta incrementó la inmunidad, mejoró el estado de salud del organismo y potenció su crecimiento, resultados obtenidos al igual que Vásquez, Rondón, y Eslava (2012) en alevinos de *P. brachypomus*. Al finalizar el ensayo experimental se apreció diferencias entre tratamientos con y sin *B. subtilis*, así se observa que el probiótico utilizado es un estimulante de tejidos hematopoyéticos (riñón, bazo y timo) encargados de regular el recambio de glóbulos rojos; resultados semejantes fueron obtenidos al analizar el perfil hematológico de *Oncrohynchus mykiss*, descrita por Rodríguez (2016) y en *Oreochromis sp* por Mantilla (2018). Con los resultados hematológicos se puede mostrar que los periodos de restricción no afectaron la salud de los peces, y se encontraron en el rango óptimo establecido por Duque y Loiza (2017), a pesar que hubo diferencias en los niveles de hematológicos entre los tratamientos. Un resultado similar reportaron Zamudio y Landines (2018), afirmando que los periodos de restricción moderada o severa no perjudican la salud de los peces (*Brycon amazonicus*).

Por otra parte ejemplares de *P. brachypomus* fueron sometidos a tiempos de restricción alimenticia intermedia (un día de ayuno y un día de alimentación) presentando niveles de hematocrito ($37,68 \pm 1,32$ %) y hemoglobina ($13,28 \pm 2,53$ g/dl). Al comparar, el T2 (tres días de ayuno y cuatro días de alimentación) sin la adición de *B. subtilis* de este ensayo presentó un nivel hematológico similar; mientras que con la adición de *B. subtilis* los valores de su hematocrito ($43,72 \pm 9,43$) y hemoglobina ($14,57 \pm 3,14$), resultaron superiores a los obtenidos por Rodríguez (2012). Además, Alaye y Morales (2013) asegura que la respuesta

homeostática influye en los parámetros hematológicos, demostrando al aplicar el ayuno prolongado en este ensayo.

4.4.2. Análisis de línea blanca

En el gráfico 9 se observa el perfil leucocitario como indicador del estado inmunitario de los ejemplares sometidos a tiempos de ayuno. Campos, Matos y Souto (2018) establecen el rango óptimo del perfil leucocitario en juveniles de cachama, en comparación a este ensayo se observó superioridad en el contenido de neutrófilos y monocitos, a diferencia del contenido de linfocitos, mientras las células eosinófilas están en el rango establecido. El contenido de neutrófilos y linfocitos presentan diferencias significativas en sus tratamientos, Así, el mayor número de neutrófilos se obtuvo en el T2 sin *B. subtilis*, mientras que el T1 con *B. subtilis* alcanzó el menor valor. En cambio, los linfocitos obtuvieron el mayor valor en el T1 con *B. subtilis* y el valor inferior fue el T2 sin *B. subtilis* en la dieta. Mientras que en el contenido de monocitos y eosinófilos no presentaron diferencias significativas, pero cabe resaltar que numéricamente las células monocíticas presentaron un mayor valor en el T1 con *B. subtilis*, por otra parte, las células eosinófilas presentaron el valor más alto en el T1 sin *B. subtilis*.

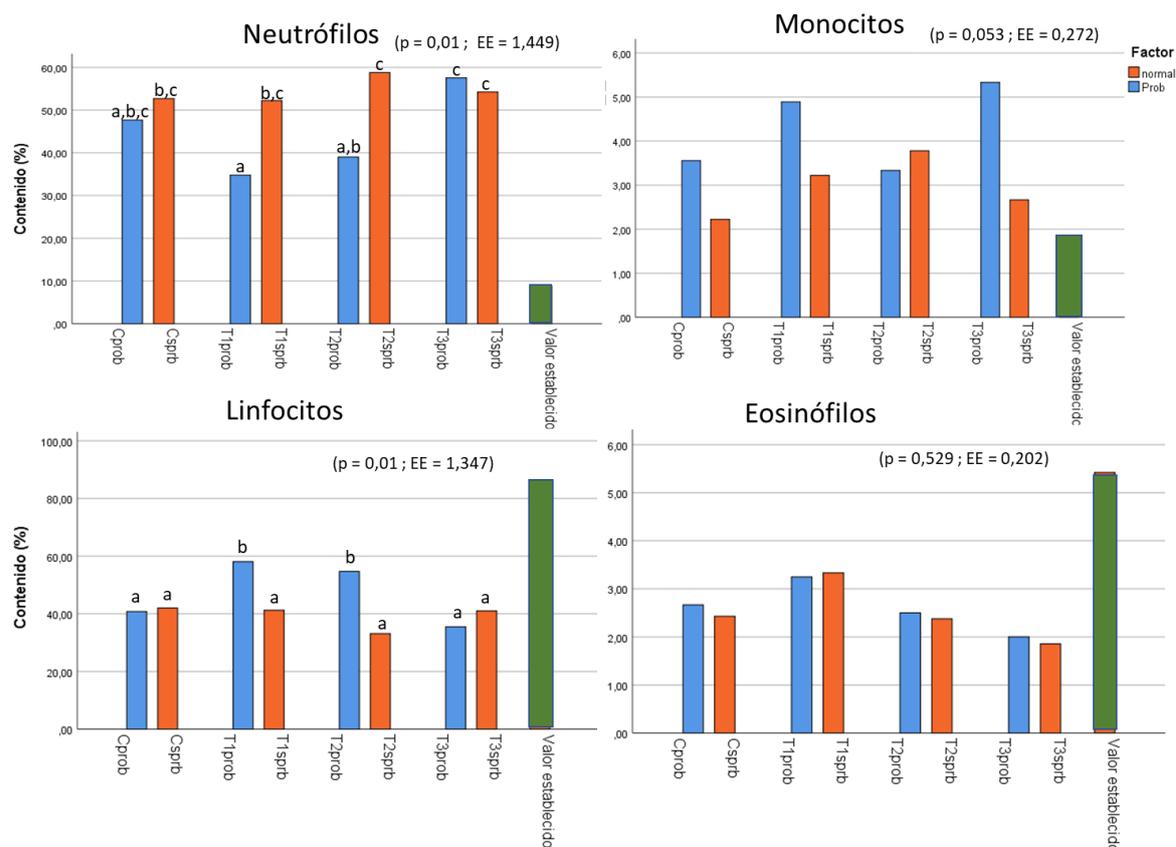


Gráfico 10. Perfil leucocitario en *P. brachyomus* a 28 días del ensayo experimental

Nota: las letras señalan grupos estadísticos diferentes según el Test de Tukey y la barra de color es considerado como el rango óptimo

Considerando el estado inmunitario de los peces se presenta mediante dos vías: 1) la respuesta innata/inespecífica y 2) la respuesta combinada/específica; así, Vasquez *et al.* (2012) afirman que los probióticos al conjugarse con la dieta, la respuesta inmunitaria inespecífica incrementa. En el actual ensayo se refleja que al suministrar *B. subtilis* en la dieta, el número de neutrófilos y monocitos están sobre el rango establecido por Campos *et al.* (2018), por lo que se destaca que hay efecto inmuno-estimulante; ya que estas células cumplen con la respuesta fagocítica y microbicida, al actuar como barrera de defensa y depurador de agentes patógenos de manera generalista e inespecífica. En contraste, Yuji, Almeida y Possebon (2014) obtuvieron valores más bajos de este conteo celular al trabajar con el prebiótico ActiveMOS-Biorigin (oligosacáridos de manano-MOS) en juveniles de *Piaractus mesopotamicus*. En el actual trabajo, se observó una leve disminución de la respuesta inmunitaria específica a medida que los tiempos de ayuno fueron más prolongados, resultado de la diferenciación de linfocitos en células plasmáticas secretoras de anticuerpos específicos y células de memoria inmunológica (Fernández, Blas, y Ruiz, 2002), ante la presencia de antígenos (agentes patógenos), ocasionando un menor número de linfocitos, en

comparación con lo descrito por Campos *et al.*(2018). Mientras que Dotta *et al.* (2011) suplementó *Lactobacillus plantarum* en *Oreochromis niloticus*, sin mostrar influencia significativa en el contenido de linfocitos.

Las células eosinófilas al ser sometidas a la dieta con y sin *B. subtilis* no presentaron diferencias significativas, además se encuentran dentro del rango establecido por Campos *et al.* (2018), por lo cual se descarta ataques de agentes parasitarios. Yuji *et al.* (2014), describen un contenido mayor de células al someterse como defensa antiparasitaria.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. El periodo de restricción alimenticia no influyó en la tasa de conversión alimenticia, eficiencia alimentaria, índice de condición y supervivencia, sin embargo, se afectó la ganancia de peso en los ejemplares que recibieron alimentación por dos días y ayuno de cinco días (T3), por lo cual el crecimiento compensatorio en juveniles de *Piaractus brachyomus* no se evidenció en su totalidad.
2. Los ejemplares que toleraron el periodo de restricción de alimento presentaron menor índice proteico tanto en músculo e hígado, pero presentaron mayor índice de grasa en el hígado, en especial los que no tuvieron *B. subtilis*.
3. El empleo de las dietas a base de *Bacillus subtilis* tuvieron un efecto positivo sobre el perfil hematológico de *Piaractus brachyomus*, por lo que, la salud de los ejemplares no se vio afectados.

5.2. Recomendaciones

1. Se recomienda seguir realizando estudios en estrategias de alimentación con periodos de restricción más prolongados con el fin de obtener resultados más acordes.
2. Se recomienda tomar datos sobre las condiciones externas al pez como calidad del agua, pH, tipos de bacterias presentes en el agua, con el fin de asegurar el efecto del probiótico *B. subtilis*.
3. Se recomienda realizar un análisis del tracto intestinal tanto al inicio como al final del ensayo experimental con el fin de evidenciar la presencia de *B. subtilis* en los peces.

CAPITULO VI

6. Bibliografía

- ABA. (2019). *Ficha técnica de la composición físico-químicas del balanceado ABA 28%*. Recuperado de: <http://www.balanceadosaba.com/files/productos/peces/ficha-tecnica/FTEsp28PorcientoTilapia.pdf>
- Abad, D., Rincón, D., y Poleo, G. (2014). Carcass yield index in red belly pacu *Piaractus brachypomus* cultivated in a Biofl oc system. *Zootecnia Trop*, 32(2), 119–130.
- Alaye, N., y Morales, J. (2013). Parámetros hematológicos y células sanguíneas de organismos juveniles del pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) cultivados en Pátzcuaro, Michoacán, México. *Hidrobiologica*, 23(3), 340–347.
- Alió, J., Bravo, L., Lucas, A., y Mieles, E. (2015). 1 er. Foro de Acuicultura de Imbabura. Universidad Técnica Del Norte, Imbabura.
- Anastacio, A. (2016). *Evaluación de tres dietas comerciales sobre el crecimiento de la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) en medios controlados* (tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Ecuador. 16-30
- AOAC. (1984). *Official Methods of Analysis*. Washington, United States: Association of Official Analytical Chemists.
- Bai, J., Reddy, R., y Sivashankar, N. (2015). Carcass composition of Red-bellied pacu (*Piaractus brachypomus*) fed with different dietary protein sources. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(5), 114–117.
- Bonilla, J., Mayer, P., Estruch, V., y Jover, M. (2017). Cambios en el índice de condición y relación longitud-peso durante el ciclo de crecimiento de la dorada (*Sparus aurata* L.) en jaulas marinas. *AquaTic*, 47, 20–31.
- Brú, S., Pertúz, V., Ayazo, J., Atencio, V., y Pardo, S. (2017). Bicultivo en biofoc de cachama blanca *Piaractus brachypomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus*, alimentadas con dietas de origen vegetal. *Rev. Med. Vet. Zoot.*, 64(1), 44–60. doi:10.15446/rfmvz.v64n1.65824.
- Campos, C., Matos, F., y Souto, P. (2018). Estudio morfológico de las células sanguíneas de *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1817). *PUBVET*, 9(12), 1–6.
- Cerón, J. (2014). *Análisis clínicos en pequeños animales*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Intermédica.79-400

- Cifuentes, R., González, J., Montoya, G., Jara, A., Ortiz, N., Piedra, P., y Habit, E. (2012). Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (Cuenca del río Valdivia, Chile). *Gayana Especial*, 72(2), 101–110.
- CIPCA. (2018). Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica. Recuperado de: <https://www.uea.edu.ec/cipca>
- Contreras, J., y Canchilla, E. (2012). Evaluación del rendimiento técnico en Cachama blanca *Piaractus brachypomus* al sustituir Morera *Morus alba* y Falso Girasol *Tithonia diversifolia* en el alimento balanceado de ceiba. *Revista CITECSA*, 2(3), 1–12.
- Despaigne, R., Cobián, J., Calá, G., Bonaventure, L., y Domínguez, L. (2012). Metabolismo de compuestos nitrogenados. *Medisan*, 16(6), 978–914.
- Dotta, G., Pedreira, J., Jatobá, A., Burgos, R., Pilati, C., y Laterça, M. (2011). Acute inflammatory response in Nile tilapia fed probiotic *Lactobacillus plantarum* in the diet. *Maringá*, 33(3), 239–246. doi:/10.4025/actascibiolsoci.v33i3.8011
- Duque, J., y Loaiza, M. (2017). *Caracterización hematológica, morfométrica y química del tejido sanguíneo, de juveniles de cachama blanca (Piaractus brachypomus) mantenidas en un sistema biofloc y un sistema de recirculación de agua* (tesis pregrado). Universidad de Caldas, Antioquia, Colombia. 36-51
- FAO. (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>
- FAO. (2018). *El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. Cumplir con los Objetivos de Desarrollo Sostenible*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/I9540ES/i9540es.pdf>
- Felipa, G., Blas, W., y Alcántara, F. (2017). Relación longitud-peso, factor de condición y tabla estándar del peso de mil alevinos del gamitama *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) criados en estanques artificiales. *Folia Amazónica*, 25(1), 17–24. doi:/10.24841/fa.v25i1.379
- Fernández, A., Blas, I., y Ruiz, I. (2002). El sistema inmune de los teleósteos (I): Células y órganos. *Aquatic*, 16(1), 1–15.
- Fracalossi, D., y Cyrino, J. (2012). *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis, Brasil: Brasileira. 49-375
- García, L., y Rodríguez, I. (2016). *Descripción de la respuesta de un policultivo de las especies *Oreochromis spp.*, *Piaractus brachypomus* y *Cyprinus carpio* de peces en*

- la vereda palmarito del municipio de San Calixto N.de S* (tesis de pregrado). Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña. 18-118
- García, R., Gutiérrez, L., y David, C. (2015). El uso de los probióticos en la industria acuícola. *Alimentos Hoy*, 23(36), 165–178.
- Gómez, J., Vásquez, L., y Valencia, D. (2016). The effect of different feeding and starvation frequencies on growth utilization and nutrients, for *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(3), 569–575. doi:10.3856/vol44-issue3-fulltext-15
- Guidoli, M., Hernández, D., Boehringer, S., Sánchez, S., y Nader-Macias, M. (2016). 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(3). 1–5. doi:10.4172/2155-9821.1000271
- Hernández, C., Hurtado, M., y Peña, E. (2019). Effect of short-term starvation on hematological and blood biochemical parameters in juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47(1), 9–17. doi:10.3856/vol47-issue1-fulltext-2
- Hualinga, 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, Bello Horizonte, San Martín* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Perú. 43-92
- Lanza, J., Churión, C., y Gómez, N. (2016). Comparación entre el método Kjeldahl tradicional y el método Dumas automatizado (N CUBE) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos. *Revista Multidisciplinaria Del Consejo de Investigación*, 28(2). 1-9.
- Ligña, L., Burgos, R., Gallo, M., Cruz, L., Jácome, A., y Pérez, M. (2018). Perfil hematológico de paiches *Arapaima gigas* juveniles mantenidos en condiciones de cautiverio en la amazonía ecuatoriana. *Rev. Electrón. Vet.*, 19(6), 126–137.
- Maldonado, R., y Taricuarima, M. (2017). *Tres niveles de inclusión del probiótico EM-CAMARON en el alimento sobre el crecimiento y composición corporal en alevinos de banda negra Myleus schomburgkii, (Serrasalmidae) cultivados en corrales* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Perú. 22-69

- Mantilla, L. (2018). *Efecto de un complejo bacteriano a base de Bacillus spp. y Paracoccus sp. en la productividad de tilapia híbrida (Oreochromis sp.) en la zona de Nanegal* (tesis de pregrado). Universidad de las Fuerzas Armadas, Ecuador. 22-79
- Martínez, D. (2011). *Efectos de la administración del probiótico Shewanella pdp 11 en juveniles de lenguado senegalés (Solea senegalensis, kaup 1858) y desarrollo de un método para su microencapsulación* (tesis de pregrado). Universidad de Almería, España. 50-97
- Mommsen, T. (2001). Paradigms of growth in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 129(2), 207–219. doi:10.1016/S1096-4959(01)00312-8
- Muñoz, V. (2018). *Contribución del biofloc inoculado con diferentes probióticos sobre el crecimiento y niveles de actividad enzimática digestiva en juveniles de tilapia (Oreochromis niloticus Var SPRING)* (tesis de maestría). Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, México. 40-77
- Murthy, L., Madhusudana, B., Asha, K., y Prasad, M. (2015). Nutritional composition, product development, shelf-life evaluation and quality assessment of pacu *Piaractus brachyomus* (Cuvier, 1818). *Indian J. Fish*, 62(1), 101–109.
- Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, A., y Austin, B. (2014). Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*, 431, 1–11. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.08.026
- Olmos, J., y Paniagua, J. (2015). *Bacillus subtilis* a potential probiotic bacterium to formulate feed for aquaculture. *Microbial & Biochemical Technology*, 6(7), 361–365. doi: 10.4172/1948-5948.1000169
- Perdomo, D., Castellanos, K., González, M., y Perea, F. (2013). Effects of the feeding strategy on productive performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Revista Científica FCV- LUZ*, 23(4), 341–349.
- Pérez, D. (2018). *Respuesta del eje reproductivo frente a la restricción alimentaria en el pez cíclido Cichlasoma dimerus* (tesis doctoral). Universidad de Buenos Aires, Argentina. 22-223
- Pérez, J., Simó, P., Naya, F., Martos, J., Perera, E., Bermejo, A., Calduch, J. (2018). Somatotropic axis regulation unravels the differential effects of nutritional and environmental factors in growth performance of marine farmed fishes. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 1–24. doi: 10.3389/fendo.2018.00687

- Polo, A. (2012). *Determinación proximal de los principales componentes nutricionales de seis variedades de leguminosas: arveja, garbanzo, haba, lenteja, maní y soya* (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador. 34-109
- Riaño, F., Landines, M., y Diaz, G. (2011). Efecto de la restricción alimenticia y la realimentación sobre la composición del músculo blanco de *Piaractus brachyomus*. *Rev. Med. Vet. Zoot.*, 58(2), 84–98.
- Rodríguez, A. (2016). *Efecto de los carotenoides y los probióticos sobre los parámetros de desempeño, hematológicos, bioquímicos, color de filete, carotenoides totales y estrés térmico en la trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss)* (tesis de maestría). Universidad Autónoma de Aguascalientes. 88-140
- Rodríguez, L. (2012). *Efecto de la restricción alimenticia sobre el metabolismo energético y el crecimiento en juveniles de cachama blanca Piaractus brachyomus (Cuvier, 1818)* (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Rodríguez, L., y Landines, M. (2011). Evaluación de la restricción alimenticia sobre el desempeño productivo y fisiológico en juveniles de cachama blanca, *Piaractus brachyomus*, en condiciones de laboratorio. *Rev. Med. Vet. Zoot.*, 58(3), 141–155.
- Ruiz, K., y Zumaeta, J. (2017). *Influencia del probiótico comercial EM-CAMARON (microorganismo eficaces) en el crecimiento y en la composición corporal en juveniles de sábalo cola roja Brycon cephalus (Characidae) criados en corales Iquitos - Perú* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Perú. 36-68
- Salinas, A. (2019). *Niveles de energía y relación proteína a energía sobre el desempeño productivo y composición corporal del paco (Piaractus brachyomus)* (tesis de maestría). Universidad Nacional Agraria la Molina, Perú. 20-59
- Suárez, M., Rincón, Á., Abellán, E., Morales, A., García, M., y Cardenete, G. (2010). Influence of starvation on flesh quality of farmed dentex, *Dentex dentex*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(4), 490–505. doi: 10.1111/j.1749-7345.2010.00390.x
- Tovar, J., Rabello, J., Zuanon, J., y Farias, I. (2014). Evidence of multiple paternity and cooperative parental care in the so called monogamous silver arowana *Osteoglossum bicirrhosum* (Osteoglossiformes: Osteoglossidae). *Neotropical Ichthyology*, 12(1), 145–151. doi:10.1590/s1679-62252014000100015

- Tueros, G. (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, Perú.
- Vásquez, M., Rondón, I., y Eslava, P. (2012). Inmunoestimulantes en teleosteos: Probióticos, β -glucanos y LPS. *Orinoquia*, 16(1), 46–62.
- Wang, X., Chen, M., Wang, K., y Ye, J. (2017). Growth and metabolic responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to varied starch and protein levels of diets. *Italian Journal of Animal Science*, 16(2), 308–316. doi: 10.1080/1828051X.2016.1275953
- World Gastroenterology Organisation. (2017). *Probióticos y prebióticos*. Recueprado de <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2017.pdf>
- Yang, G., y Jeong-Yeol, L. (2012). Compensatory responses of nile tilapia *Oreochromis niloticus* under different feed- deprivation regimes. *Fish Aquat Sci*, 15(4), 305–311. doi: 10.5657/FAS.2012.0305
- Yuji, R., Almeida, A., y Possebon, J. (2014). Hematology of juvenile pacu, *piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) fed graded levels of mannan oligosaccharides (MOS). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(1), 30–39. doi: 10.3856/vol42-issue1-fulltext-3
- Zamora, S., Rubio, V., Cerdá, M., Robaina, L., Rodríguez, C., Florenzo, A., ... Borja, A. (2009). *La nutrición y alimentación en piscicultura*. Madrid, España: CSIC. 50-803
- Zamudio, J. (2014). *Efecto de la restricción de alimento y posterior realimentación sobre el crecimiento y metabolismo de juveniles de yamú Brycon amazonicus* (tesis maestría). Universidad Nacional de Colombia, Colombia. 115-155
- Zamudio, J., y Landines, M. (2018). Efecto de la restricción de alimento y posterior realimentación sobre algunas variables fisiológicas y metabólicas en yamú (*Brycon amazonicus*). *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 65(2), 154–171. doi: 10.15446/rfmvz.v65n2.75637
- Zeng, L., Fu, S., Li, X., Li, F., Li, B., Cao, Z., y Zhang, Y. (2014). Physiological and morphological responses to the first bout of refeeding in southern catfish (*Silurus meridionalis*). *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 184(3), 329–346. doi: 10.1007/s00360-014-0801-8

CAPITULO VII

7. Anexos



Foto 1. Limpieza y desinfección de los estanques con geomembrana



Foto 2. Armado de jaulas flotantes con red, utilizadas en el ensayo



Foto 3. Instalación de jaulas flotantes sobre los estanques con geomembrana



Foto 4. Alimentación de las cachamas con la dieta establecida durante el ensayo



Foto 5. Recambio de agua cada 7 días durante el ensayo experimental



Foto 6. Medida de parámetros productivos cada 15 días durante el ensayo



Foto 7. Extracción de muestras (hígado y músculo)



Foto 8. Muestras sanguíneas extraídas de los peces *P. brachypomus*



Foto 9. Análisis hematológico

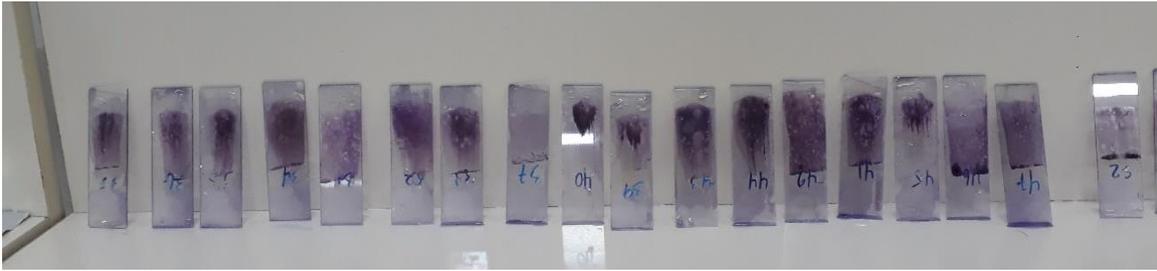
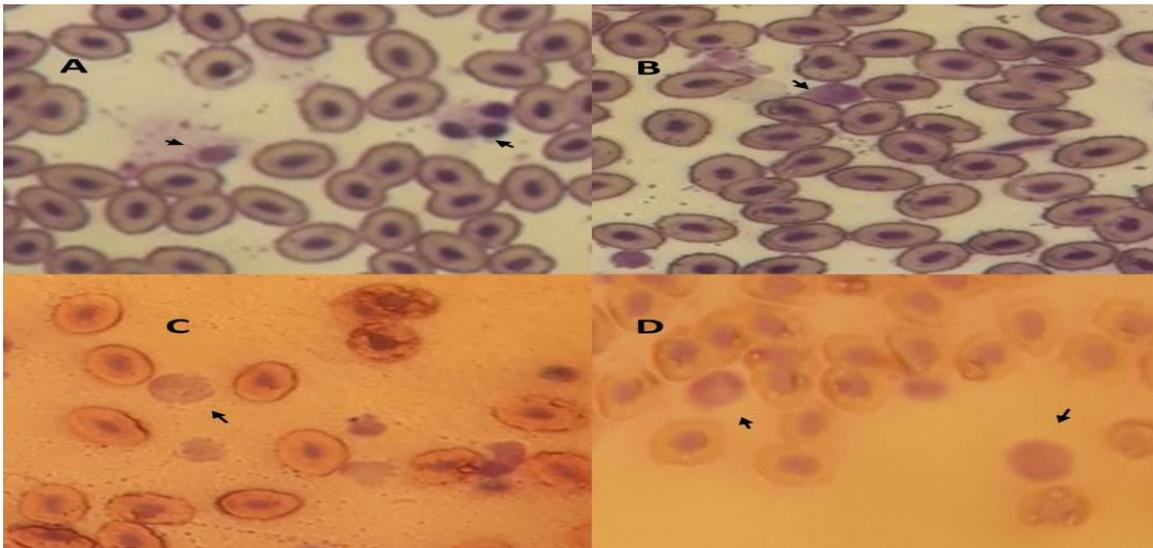


Foto 10. Conteo leucocitario por medio del método de exploración microscópica (frotis)



Nota: A). Neutrófilos; B). Linfocitos; C). Monocitos; D). Eosinófilos

Foto 11. Células leucocitarias



Foto 12. Rotulación de muestras frescas en cajas Petri



Foto 13. Muestras musculares y hepáticas secadas en la estufa a 65 ° C



Foto 14. Pesaje de muestras y reactivo (pastillas Kjeldahl)



Foto 15. Análisis para la obtención de la proteína



Foto 16. Análisis para la obtención del contenido de grasa