

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

REGISTRO DE SERVICIO SOCIAL POR INVESTIGACIÓN

Efecto de la harina de mezquite y los probióticos *Rhodotorula*
sp y *Bacillus subtilis* en el cultivo de *Xiphophorus hellerii*

QUE PRESENTA:

Carlos Zaid Espinosa Cerrillo

MATRICULA:

2182035670

Asesora:



Dra. María del Carmen Monroy Dosta (28906)

Introducción.

La FAO define la acuicultura como “la explotación de organismos acuáticos, incluyendo peces, moluscos, crustáceos y plantas acuáticas”, en dicha explotación implica una cierta intervención en todo el proceso de crianza de estos organismos para así obtener una mejor producción en cuanto a la calidad y cantidad de organismos (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2000). El sector de peces ornamentales a nivel mundial en cuanto a su exportación, pesca y acuicultura es una de las áreas económicamente más rentables en la piscicultura, tan sólo en México se producen anualmente alrededor de veinte millones ochocientos mil peces de ornato de agua dulce en 250 Unidades de Producción Acuícola (UPAs) establecidas en 20 estados de la República Mexicana (Gobierno de México, 2022). Los ingresos generados por la venta de estos peces debido a la acuicultura son de aproximadamente ochenta millones de pesos anuales, generando más de cuarenta mil. Debido a esto y para fomentar un mejor desarrollo en la producción tanto de peces ornamentales o como de consumo se han implementado nuevas técnicas en la crianza, al cultivar y usar bacterias probióticas las cuales según Sánchez *et al.* (2015) menciona que la FAO y OMS en el 2001 los definieron como: “microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios a la salud del hospedador”. Dentro de los cuales: *Pediococcus acidilactici*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Clostridium butyricum*, *Saccharomyces cerevisiae*, han demostrado grandes resultados en cuanto a los efectos que generan en el desarrollo y supervivencia de los organismos a los que se les ha administrado como suplemento en su dieta. Por otro lado, el uso de prebióticos de origen vegetal también ha ayudado al desarrollo de los organismos, los cuales se definen como: ingredientes que producen una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad(es) de uno o de un limitado número de géneros/especies de microorganismos en la microbiota intestinal confiriendo beneficios para la salud del hospedador (Corzo *et al.*, 2015). La mezcla de ambos (probióticos y prebióticos) que generan un efecto en el huésped se les denomina simbióticos (Gobierno de México, 2022)

El uso de probióticos, prebióticos y simbióticos en la producción de peces ha demostrado gratificantes resultados como alternativa a la aplicación de antibióticos, mejorando la respuesta inmune y aumentando su supervivencia, así como un mejor desarrollo en el crecimiento de los organismos, mejora la tolerancia al estrés, etc (Zokaeifar *et al.*, 2013). Sin embargo, se requiere probar otras fuentes vegetales con rico contenido en oligofruktosa que pudieran ser aprovechados en forma de prebióticos y tener una diversidad de opciones como alternativa a la inulina. Por lo que la finalidad de este proyecto será evaluar los efectos de dos cepas probióticas: *Rhodotorula sp.* y *Bacillus subtilis*, así como la harina de mezquite *Prosopis sp.* En la dieta de *Xiphophorus hellerii*, en su supervivencia, crecimiento y coloración, de esta especie de gran importancia en la industria de peces ornamentales.

Justificación

El uso de prebióticos y probióticos ha demostrado ser de gran ayuda como una nueva alternativa a cultivo de peces de ornato, donde los organismos pueden generar una mayor resistencia a enfermedades y estrés, así como un desarrollo óptimo en el crecimiento y la pigmentación. Esto se puede traducir como un beneficio económico a la industria agropecuaria donde habría una menor pérdida de ejemplares y un cultivo de mayor calidad.

Antecedentes.

1. Probióticos.

La palabra “probióticos” etimológicamente proviene del griego *pro bios* (para la vida) y fue empleado por primera vez por Lilly y Stillwel en 1965, para describir los metabolitos producidos por un organismo que estimula el crecimiento de otro (Guitierrez *et al.*, 2013). Los Probióticos fueron inicialmente conceptualizados en 1965 como sustancias secretadas por microorganismos que estimulan el crecimiento de otros, pero actualmente el término de probiótico se refiere a un preparado o un producto que contiene cepas de microorganismos

viables en cantidades suficientes como para alterar la microbiota en algún compartimiento del huésped (por implantación o colonización) y que producen efectos benéficos en dicho huésped (Oliveira & Gonzalez, 2007). Para que un microorganismo sea designado como probiótico, debe cumplir unas determinadas características, resumidas por Erwin y colaboradores en 1994 (Gutiérrez *et al.*, 2013):

1. Seguro para el animal, sin causar enfermedad ni toxicidad.
2. Resistente al pH gástrico y a las sales biliares.
3. Capacidad de colonización del intestino: sólo algunas cepas se adhieren al epitelio intestinal. Esto es necesario para lograr una exclusión competitiva eficaz.
4. Capacidad de inhibir el crecimiento de patógenos tanto Gram positivos como Gram negativos; uno de ellos son los serotipos de *Escherichia coli* patogénicas, al producir ácidos u otras sustancias que inhiben su crecimiento.
5. Ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda llegar vivo al intestino.
6. Estables y viables durante el almacenaje. Hay que tener en cuenta si el microorganismo usado es aerobio o anaerobio para conservarlo adecuadamente

1.1 Mecanismos de acción probiótica.

Los probióticos generan diversas acciones a través de las cuales ejercen efectos benéficos:

1. Compiten con bacterias nocivas por:
 - desplazamiento de su sitio de unión al epitelio
 - inhibición de su crecimiento y/o muerte mediante la producción de compuestos antibacterianos o reducción del pH.
2. Los probióticos ayudan a mejorar la función de la barrera intestinal, revirtiendo los efectos dañinos causados por enfermedades inflamatorias intestinales, normalizando la permeabilidad intestinal, mejorando la respuesta inflamatoria intestinal.
3. Producción de nutrientes importantes para la función intestinal como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) principalmente acetato, propionato y butirato, los cuales, son la principal fuente de energía de los colonocitos.

4. Inmunomodulación, donde los probióticos actúan tanto sobre la inmunidad intestinal específica como inespecífica, y que este hecho está íntimamente relacionado con sus efectos benéficos sobre el hospedador.

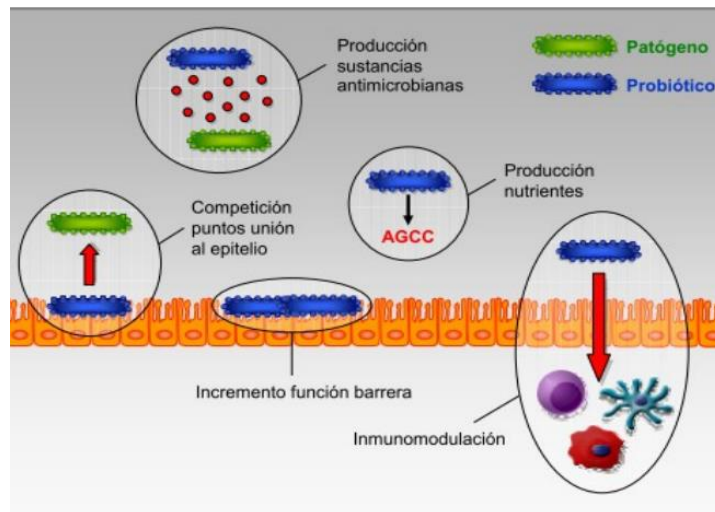


Figura 1. Mecanismo de acción ejercido por las bacterias probióticas (<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/NADA%20HESSISEN.pdf>)

1.3 Probióticos utilizados

- *Rhodotorula sp*

El género *Rhodotorula* forma parte de los hongos levaduriformes; es simbiote normal de la piel, tracto respiratorio superior y heces; se distinguen por la producción de pigmentos carotenoides, los cuales confieren a las colonias una coloración rosada o rojiza (Reyes *et al.*, 2015). Estos hongos forman parte de la microflora comensal de la piel, uñas y membranas mucosas, aparecen también en el queso, los productos lácteos y diversas fuentes ambientales como aire, suelo, cortinas de ducha, lechada blanca de las bañeras y cepillos de dientes. Son células mucóides, encapsuladas y fermentan azúcar. Raramente producen micelios, son ureasa positiva, inositol negativos. No forman pseudohifas; al microscopio se observan células levaduriformes ovaladas, en brotes que se disponen en racimos irregulares y laxos (Reyes *et al.*, 2015).

- *Bacillus subtilis*

Es una bacteria catalasa positiva que se encuentra ampliamente distribuida por todo el globo terráqueo. Constituye uno de los especímenes del género *Bacillus* más estudiado. Tienen forma de barra con bordes redondeados. Miden aproximadamente 1 micra de ancho por 2-3 micras de largo. Se encuentran de forma individual o formando pequeñas cadenas. Cuando se somete al proceso de tinción de Gram, la bacteria adopta la típica coloración violeta de las bacterias Gram positivas. Esto es debido al peptidoglicano presente en su pared celular. (Equipo editorial, 2022).

1.4 Aplicación de probióticos.

1.4.1 Animales.

En varias investigaciones realizadas en animales se ha encontrado que los probióticos son una alternativa de reemplazo a los promotores de crecimiento ya que al ser administrados en cantidades adecuadas reducen la mortalidad y aumentan la conversión alimentaria (Gutiérrez *et al.*, 2013). Sobre todo, en la producción animales de granja se ha demostrado que al ser alimentados con probióticos han alterado la microbiota intestinal, incrementando la inmunidad intestinal, resistencia mejorada a las enfermedades, eliminación de patógenos y síntomas de enfermedades mejorando así su estado de salud (Liao & Nyachoti, 2017).

Las preparaciones probióticas pueden ser administradas inmediatamente después del nacimiento de los animales o en periodos en los que el productor espere la aparición de enfermedades o mezclados en el alimento por periodos largos de tiempo (Guitierrez *et al.*, 2013).

1.4.2 Probióticos en acuicultura

La aplicación de probióticos en el campo de la acuicultura ha tenido un impacto considerable en cuanto al desarrollo de las especies en las que se les aplicaron como complemento a su dieta. Zokaifar y colaboradores en el 2013, utilizaron *Bacillus subtilis* en la producción de camarón blanco, como alternativa al uso de antibióticos, lo cual ayudó a aumentar el rango de supervivencia del camarón.

En el 2010, Valera y colaboradores, también aplicaron probióticos a la dieta de un cultivo de *Sparus auratus*, donde registraron un incremento considerable en el crecimiento de los ejemplares, resistencia al estrés y una mayor resistencia a patógenos y enfermedades.

2. Prebiótico.

El término “prebiótico” se refiere a los ingredientes de los alimentos no digeribles que producen efectos benéficos sobre el huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de un tipo o de un número limitado de bacterias en el colon. Por ejemplo, la ingestión de fructooligosacáridos y la inulina favorecen a las bifidobacterias de forma selectiva (Olvera & Gonzalez, 2007). En general, se identifican como carbohidratos de cadena corta, alguna vez reconocidos como oligosacáridos, no digeribles por las enzimas del epitelio intestinal o de las glándulas anexas debido a su estructura química, y de esta manera llegan al intestino grueso donde alcanzan a estar disponibles para la fermentación de bacterias sacarolíticas, que son especialmente lactobacilos y bifidobacterias, dando origen a compuestos que ejercen efectos funcionales sobre la mucosa del tubo digestivo (Salazar & Montoya, 2003).

2.1 Aplicación de prebióticos.

En estudios hechos en simuladores del intestino humano, utilizando productos de avena fermentados, se encontró que estimularon el crecimiento tanto de lactobacilos como de bifidobacterias, y en el caso de las últimas se incrementó la producción de ácido acético, propiónico y butírico, lo que incide sobre la implantación de probióticos e inhibe el crecimiento de otro tipo de microorganismos (Salazar & Montoya, 2003).

Los prebióticos más estudiados son la inulina, el almidón-resistente, los oligosacáridos como los fructooligosacáridos y los galactooligosacáridos (Olveira & Gonzalez, 2007).

2.2 Mezquite.

El mezquite es un arbusto o árbol espinoso perenne, mide hasta 10 m de altura cuyo desarrollo depende de las condiciones del suelo. Posee un sistema radicular amplio y profundo. Su raíz principal puede alcanzar profundidades de más de 50 m, y sus raíces laterales se extienden hasta 15 m a los lados del árbol. Troncos de corteza oscura o negruzca; ramas flexuosas formando una copa esférica o deprimida. Los tallos más

delgados son espinosos, frecuentemente áfilos y provistos de abundante parénquima cortical que hace que las funciones de las hojas atrofiadas o caducas. Espinas generalmente abundantes, axilares o terminales. Sus hojas son compuestas, bipinnadas, con 12 a 15 pares de folíolos oblongos o lineares, de 5 a 10 mm de largo, más o menos persistentes, pero caducas en invierno, tiene pequeñas estípulas que luego secan y caen . Únicamente presenta un par de pinnas por hoja. La época de formación de renuevos se extiende desde marzo hasta mayo; los folíolos permanecen en la planta de abril a diciembre. Con flores de color amarillo verdoso; se encuentran agrupadas en inflorescencias en racimos en forma de espiga; las flores son sumamente pequeñas, miden de 4 a 10 mm y están situadas sobre pedúnculos de 1 a 2 mm, producen un aroma y néctar agradable, indispensable para la polinización. Son bisexuales, actinomorfas, con 5 sépalos y 10 estambres. Los frutos son vainas o legumbres en forma de lomento drupáceo; alargadas, rectas o arqueadas y en algunos casos espiraladas, indeshiscentes, de 10 a 30 cm de longitud; pueden ser planas o cilíndricas en la madurez, y contienen de 12 a 20 semillas; la cáscara o pericarpio es coriácea, de color aja o rojizo-violáceo (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, 2022).

El mezquite se desarrolla en las regiones áridas de México, tiene múltiples usos dentro de los cuales destacan su uso como fuente de alimento, combustible y medicinal. (Rodríguez *et al.*, 2014). Las vainas de mezquite son dulces por su alto contenido de sacarosa, así como ricas en fibra, proteína y minerales. Pero, en México existe escasa información acerca de la inclusión de las vainas de mezquite en formulaciones alimenticias con el fin de obtener productos que reúnan las características aceptables por los consumidores, además de aportar o reforzar nutrimentos que proporcionen un efecto benéfico a la salud de estos (Del Carmen y Fortou, 2020).

2.2.1 Harina de mezquite.

La harina de mezquite es un polvo fino que se obtiene de la molienda y tamizado de las vainas; para esto se utilizan tamices que proporcionan un producto con un tamaño de partícula fina. En México no se presenta una norma que defina a la harina procedente de la

vaina de mezquite. Para la obtención de la harina es importante considerar las siguientes etapas: selección, lavado, escurrido, secado, molienda, tamizado y envasado. Una vez conseguida la harina, se puede mezclar con otros alimentos (Del Carmen & Fortoul, 2020).

2.2.2 Clasificación taxonómica del mezquite.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del mezquite

Taxonomía	
Reino	Plantae
Filo	Spermathophita
Clase	Dicotiledonea
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Genero	<i>Prosopis</i>
Especie	<i>Prosopis sp.</i>

3. *Xiphophorus hellerii*

El pez cola de espada (*Xiphophorus hellerii*) forma parte del orden de cyprinodontiformes que se encuentran distribuidos principalmente en las costas del océano Atlántico del continente americano en aguas dulces de climas templados o tropicales, desde el sur de Estados Unidos, pasando por Centroamérica hasta el norte de Argentina (Gómez *et al.*, 2010). De manera general los miembros de la familia Poeciliidae son utilizados ampliamente para experimentación en laboratorio, debido a su fácil manejo, mantenimiento y reproducción, así como la presencia de un marcado dimorfismo sexual y tener un ciclo biológico corto (Maya *et al.*, 1999). *X. hellerii* es considerado una especie modelo para experimentación, utilizado para estudios sobre reproducción y heredabilidad, variabilidad genética. (Llanos & Scotto, 2014).

Esta especie se caracteriza por presentar ojos relativamente grandes, con una boca supraterrminal, una línea dorsal muy marcada, una única aleta dorsal con los radios generalmente blandos (Gómez *et al.*, 2010). Los ejemplares adultos llegan a medir aproximadamente 10 cm, en los machos y unos 12 cm para el caso de las hembras, los

cuales también presenta un marcado dimorfismo sexual, en los que sobresalen, la coloración en los machos es más brillante y con colores más vivos, lo cual resulta crucial en el momento del cortejo de las hembras, las cuales, presentan una coloración menos brillante y cuerpos más redondeados (Gómez *et al.*, 2010). Cuando se encuentra preñadas se manifiesta en la parte ventral posterior del cuerpo una mancha color negro denominada “punto de gravidez” (Gómez *et al.*, 2010), Los machos tienen una prolongación de los radios inferiores en la aleta caudal, formando una especie de espada. Al llegar a la madurez sexual desarrollan un órgano copulador flexible denominado gonopodio, al extremo del gonopodio se forman unas pequeñas estructuras en forma de ganchos que permiten anclarse a la hembra durante la cópula (Gómez *et al.*, 2010). Es una especie polígama, en la que los huevos son fecundados de manera interna por la hembra hasta que cuentan con un alto desarrollo. Sin embargo, las hembras pueden almacenar cistos espermáticos por periodos de tiempo prolongados, lo que hace que suceda superfecundación en esta especie. El periodo de gestación varía entre 20 y 30 días aproximadamente y depende de varios factores externos como lo son: temperatura, pH y dureza. Las crías al nacer cuentan con un alto grado de desarrollo para así desde el momento de su concepción puedan valerse por sí mismos, pues deben huir de sus progenitores debido a que es una especie con tendencias caníbales. El tipo silvestre de *X. helleri* muestra coloraciones y características muy distintas a su variedad comercial, el cual ha sido modificado con el tiempo por medio de cruces con otras especies afines, como: *Xiphophorus maculatus*, *Xiphophorus variatus*, y *Poecilia sphenops*.

3.1 Clasificación taxonómica del pez espada.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Xiphophorus hellerie*

	Taxonomía
Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Osteichthyes
Orden	Cyprinodontiformes
Familia	Poeciliidae
Genero	<i>Xiphophorus</i>
Especie	<i>Xiphophorus helleris</i>

4. Objetivos.

4.1 General:

- Evaluar los efectos de la harina de mezquite como prebiótico y de los probióticos *Bacillus subtilis* y *Rhodotorula sp* en el cultivo de *Xiphophorus hellerii*.

4.2 Particulares:

- Evaluar la supervivencia y crecimiento de *Xiphophorus hellerii* durante la aplicación de probiótico y prebiótico.
- Evaluar la coloración en los ejemplares de *Xiphophorus hellerii* donde se administraron probiótico y prebiótico.
- Evaluar los cambios fisicoquímicos en el agua de los distintos tratamientos con y sin probióticos y prebiótico.

5. Hipótesis

Si se utilizan probióticos y prebióticos para el cultivo de *Xiphophorus hellerii* se obtendrá mejor su pervivencia y crecimiento en comparación con el control

6. Materiales y métodos

6.1 Obtención de peces *Xiphophorus hellerii*.

De un centro productor de peces de ornato, se obtuvieron un lote de 200 peces juveniles, que no presentaron ningún signo o lesión que indiquen cualquier proceso infeccioso. Los peces se mantuvieron en el Laboratorio de Alimento Vivo del Departamento del Hombre y su Ambiente, donde se equiparon previamente tinas de cultivo (200 litros) durante un periodo de aclimatación de 15 días, a 23 ± 2 °C de temperatura, un pH de 7, una concentración de oxígeno disuelto de 6 mg L^{-1} y 0.3 ppm de nitratos (NO_3) y nitritos (NO_2). Los peces fueron alimentados diariamente con alimento comercial para la especie hasta dar inicio a la parte experimental.

Después del periodo de aclimatación los ochenta y cuatro peces sobrevivientes se distribuyeron al azar en 9 peceras de 40 L de capacidad con las condiciones ambientales

antes descritas figura (x). Se contó con un tratamiento control, un tratamiento donde se adicionó los probióticos *Bacillus subtilis* y *Rhodotorula* sp a una concentración de 2×10^7 UFC/ml y 5 g kg^{-1} (del pez) del prebiótico (mezquite) y un tratamiento solo con mezquite. Cada tratamiento se realizó por triplicado durante un periodo de duración de 60 días.



Figura 2. Peces con distintos tratamientos distribuidos de manera aleatoria

6.2 Obtención de parámetros biométricos.

Diariamente se llevó registro de la supervivencia y a partir de la semana tres de alimentación se obtuvieron los parámetros biométricos para lo cual los peces fueron pesados con una balanza digital y medidos utilizando un vernier tomando en cuenta la longitud estándar (SL) es decir, se midieron desde la punta del hocico hasta el pedúnculo caudal.

6.3 Coloración de los peces.

Para evaluar el incremento de la coloración de los peces se utilizó el método para la extracción de pigmentos descrito por Olson (1979) y citado en Narayanan *et al.* (2008). Para lo cual se tomó un gramo de tejido corporal del pez con excepción de la cabeza y el tracto digestivo y se depositó en un vial de 10mL, donde se agregaron 2.5 gr. de sulfato de sodio anhidro. La muestra se presionó contra las paredes del vial con un agitador de vidrio, posteriormente se agregaron 5 mL de cloroformo y se dejó reposar durante toda una noche a 0°C. Cuando el cloroformo formó una capa clara de uno a dos centímetros aproximadamente sobre el residuo, se tomó la lectura de la densidad óptica a 500 nm en un espectrofotómetro, para lo cual se tomaron alícuotas de 0.03 mL de las muestras preparadas y contrastadas con el control y el blanco. El contenido total de carotenoides fue calculado como µg por peso húmedo del tejido con la siguiente fórmula:

Contenido total de carotenoides = [absorción en la longitud de onda máxima / (0.25 x peso de la muestra (g))] x 10.

Donde:

10 = factor de dilución

0.25 = coeficiente de extinción.

6.4 Análisis estadístico.

Para toda la información generada se creó una base de datos en Excel donde se realizó la estadística no paramétrica. Para determinar si existieron diferencias significativas entre los tratamientos se realizó un análisis de varianza (ANOVA), de ser significativo, se procedió a realizar un análisis de la comparación de medias múltiples por el método de Tukey.

7. Resultados.

7. 1. Crecimiento.

A pesar de que los peces del tratamiento control alcanzaron un mayor crecimiento en su longitud estándar, no se mostró ninguna diferencia significativa ($p = 0.24$) entre los tratamientos (Figura 3).

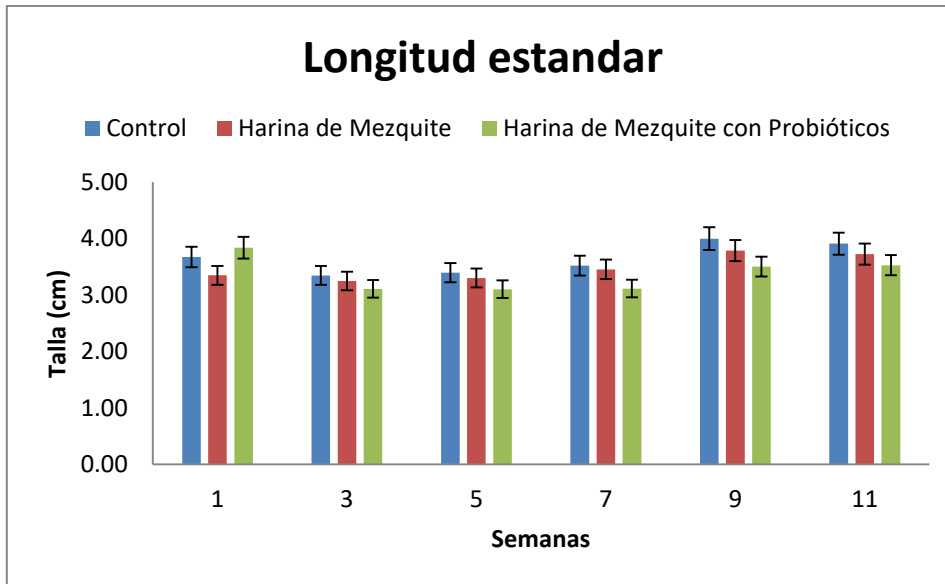


Figura 3. Longitud estándar de todos los tratamientos durante 12 semanas.

Con relación al peso al final del experimento, se observó el mismo comportamiento ya que los peces que recibieron harina de mezquite y probióticos mostraron diferencias significativas con respecto al control y la harina de mezquite, con un $p = 0.006$ al ser el tratamiento con menor peso (Figura 4).

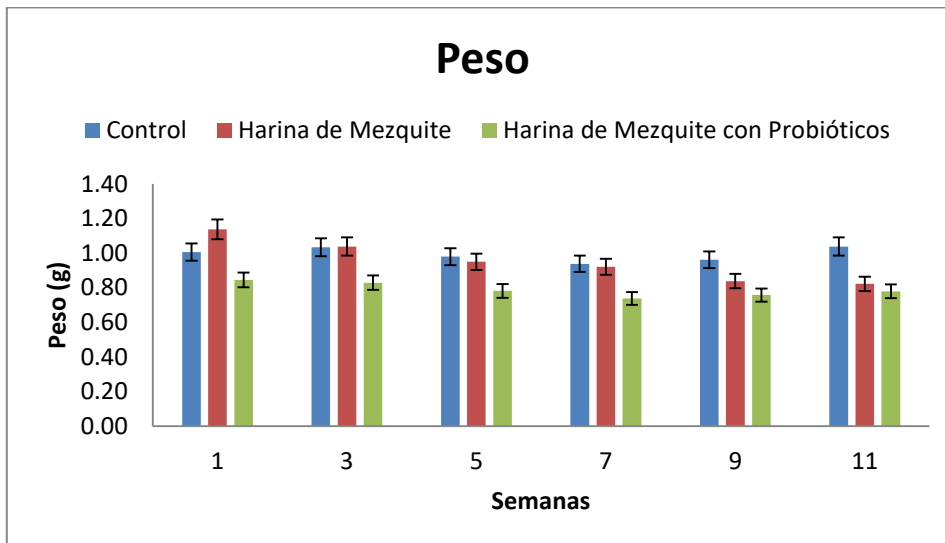


Figura 4. Valores promedio de peso de los diferentes tratamientos durante 12 semanas de experimentación

7. 2. Supervivencia.

La supervivencia fue mayor en los peces que se alimentaron con harina de mezquite con un 78.5%, seguido del tratamiento que recibió harina de mezquite y probióticos con un 71.4% y el control obtuvo un 64.2%. (Figura 5).

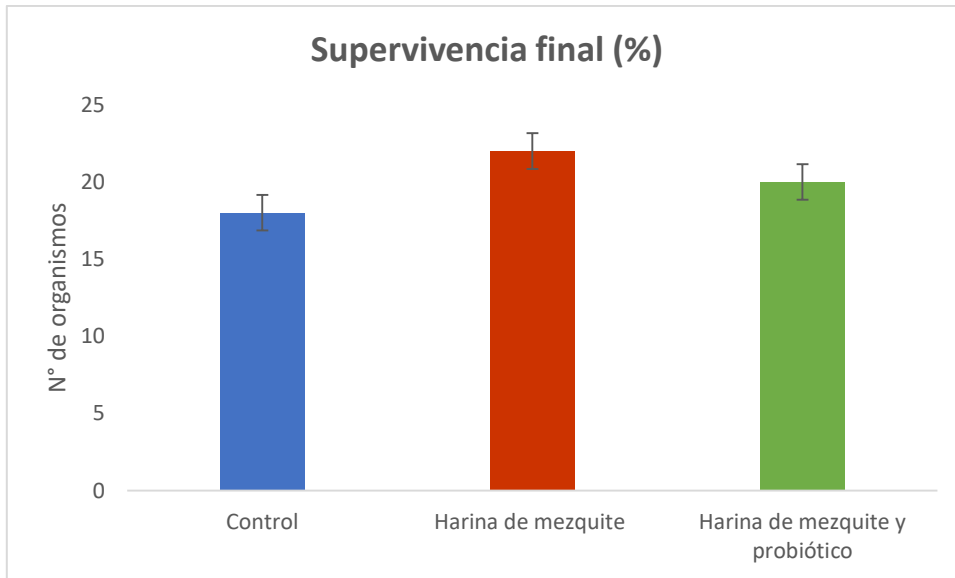


Figura 5. Supervivencia de los peces al final del experimento

7. 3. Coloración de los peces.

Con respecto a la coloración de los peces no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p= 0.174$) (Figura 6).

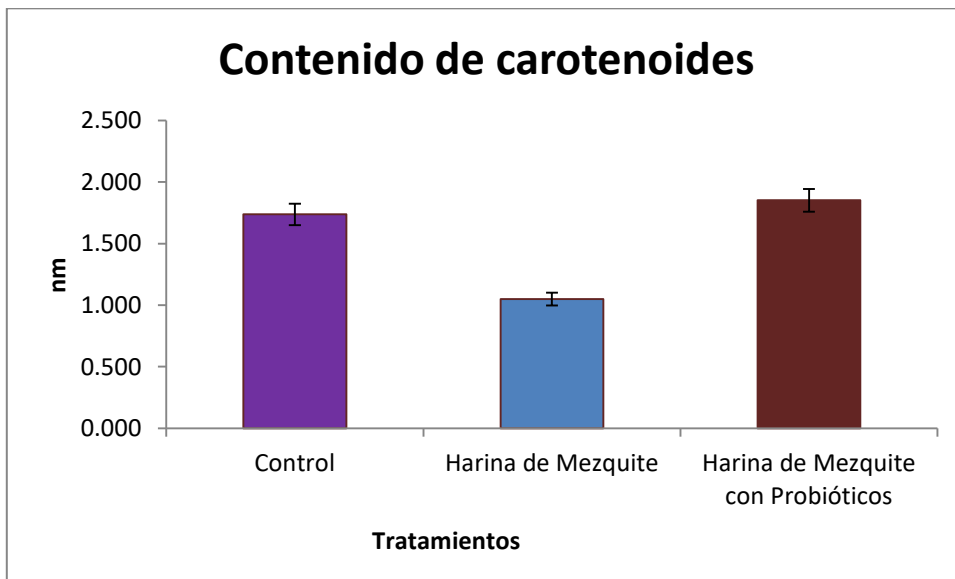


Figura 6. Promedio en la coloración de los peces al finalizar el experimento.

7. 4. Calidad del agua.

7.4.1. pH.

Los valores de pH se mantuvieron en niveles óptimos para el desarrollo y reproducción de estos peces manteniéndose en un rango entre 7.6 y 8.4 durante el periodo experimental, siendo de 7 a 8.3 el rango idóneo para su crianza, por lo que este parámetro químico no representó un riesgo para su salud (Figura 7).

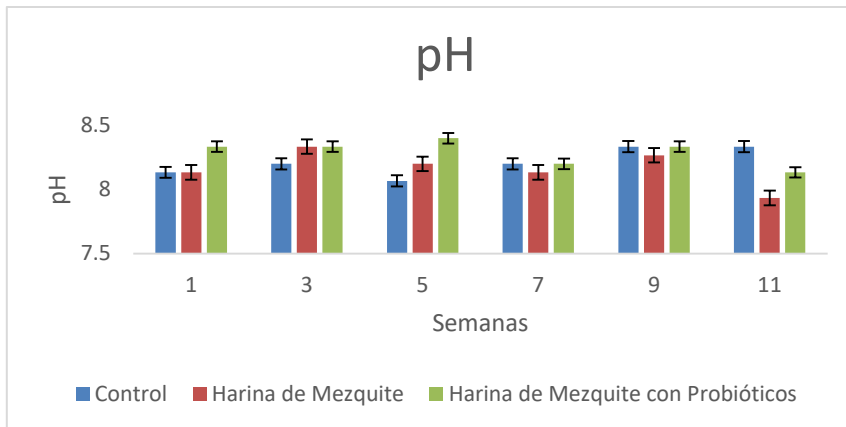


Figura 7. Valores promedio de pH en los tratamientos durante 12 semanas

7.4.1. Amonio

Con relación al amonio, se observaron variaciones de este elemento a lo largo del experimento con mayor incremento en las primeras semanas del experimento sobre todo en el control el cual superaba los niveles recomendados para *X. hellerii* (1.5 ppm) y en el tratamiento de harina de mezquite, valores que fueron disminuyendo de manera paulatinamente a medida que avanzaba el experimento (Figura 8).

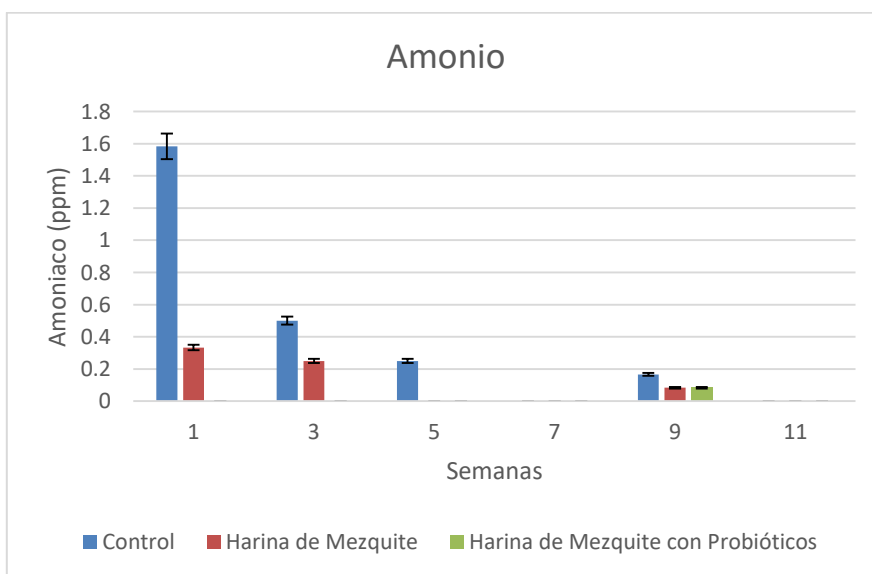


Figura 8. Registro de amoniaco en los tratamientos durante 12 semanas

El mismo comporta miento se observó para los nitritos, donde se obtuvo una concentración elevada al principio del experimento en todos los tratamientos con un máximo de 2ppm, desapareciendo por completo a partir de la semana 5 (Figura 9).

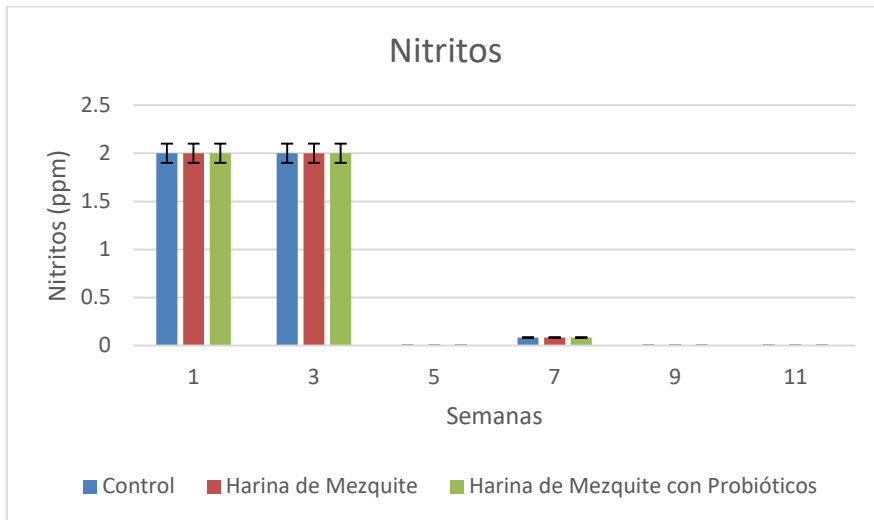


Figura 9. Valores de nitritos en los tratamientos

Los nitratos incrementaron su presencia conforme pasaron las semanas en todos los tratamientos aumentando considerablemente a partir de la semana 9 del experimento y llegando a su máximo en la semana 11 con 80 ppm (Figura 10).

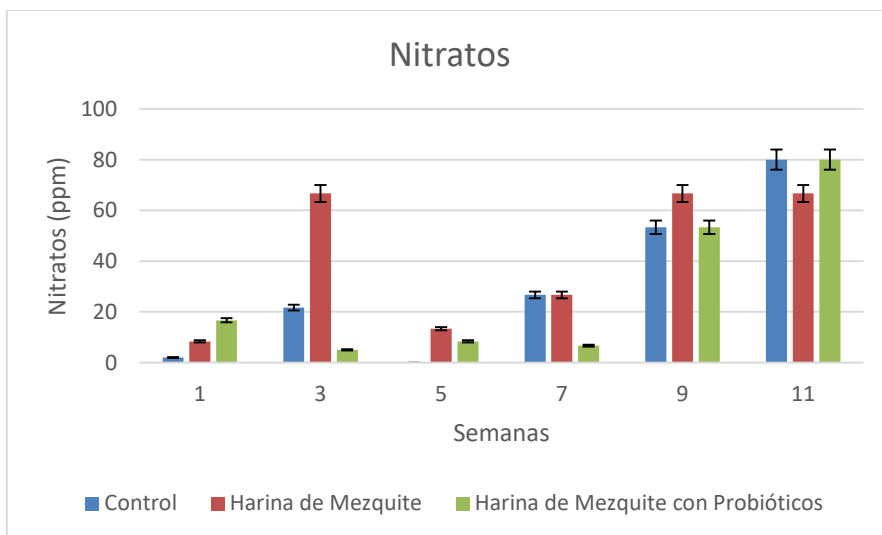


Figura 10. Valores de nitratos en los tratamientos

8. Discusión

El uso de *Bacillus subtilis* dentro de la acuicultura es ampliamente recomendado (Álvarez, 2023) sin embargo, el crecimiento de los peces no mostró diferencias significativas entre los tratamientos al adicionar la bacteria probiótica, el mismo comportamiento se observó en el peso con la excepción del tratamiento donde los peces fueron alimentados con harina de mezquite y probióticos, donde los peces presentaron el menor crecimiento. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Castro et al. (2011), quienes utilizaron diferentes cepas de bacterias del género *Bacillus*, donde no se observaron diferencias significativas en el peso de los peces. Los autores señalan que estos resultados pueden ser debido a que ciertos tipos de bacterias usadas como probióticos no se adhieren de forma adecuada en el tracto digestivo de algunos peces, debido a que otros tipos de bacterias podrían estar dominándolo e impidiendo que otras se fijen (Gilberg et al 1995). En cuanto a los prebióticos Anacona (2021) menciona que sus tratamientos no se vieron beneficiados en el desarrollo al usar un prebiótico comercial en *Oreochromis sp.* Tanto de manera individual y en conjunto con probióticos, lo cual concuerda con los resultados de este experimento.

Con relación a la supervivencia, el tratamiento en el que su dieta incluía únicamente harina de mezquite obtuvo mejores resultados, seguido del tratamiento que combinaba harina de mezquite y probióticos. Rodríguez et al. (2018). Menciona que los animales que son alimentados con suplementos dietéticos con prebióticos; mejora la supervivencia en un 10% en comparación con tratamientos que no recibieron ese tipo de suplementación alimenticia. De igual manera Gibson y Roderfroid (1995), señalan que el uso combinado de prebióticos y probióticos mejoran la supervivencia al mejorar la colonización en el tracto digestivo del huésped.

Por otra parte, para la pigmentación hay diversos estudios, como el de Gil et al. (2015). Donde utilizaron aceite de langostilla roja, que actuó como prebiótico para mejorar crecimiento, supervivencias y particularmente la pigmentación en carpas koi, en donde reportaron que hubo una mejora en la pigmentación de sus ejemplares. En el caso de este experimento, no se presentaron diferencias significativas al usar harina de mezquite para mejorar la pigmentación de los peces, ya que al contrario del aceite de langostilla, no es un alimento que contenga altas cantidades de carotenoides como se menciona en el trabajo de Gil et al. (2015), sin embargo, aunque no se mostró una diferencia estadística significativa, el tratamiento que solo usó harina de mezquite fue el que obtuvo mayores resultados, con respecto al control y al tratamiento con harina de mezquite y probióticos.

Por último, en este experimento se evaluó la calidad del agua midiendo de manera constante el pH, y el nitrógeno en forma de amonio, nitritos y nitratos. Durante todo el experimento estos parámetros se mantuvieron en niveles óptimos para la supervivencia de *X. hellerii*, lo cual concuerda con múltiples experimentos, como el de Lujan en el 2022, donde menciona que el uso de probióticos y prebióticos mejora la calidad del agua reduciendo niveles de TVC y NH₃ y aumenta los niveles de oxígeno disuelto. También Shariff *et al.* (2001) menciona que el uso de probióticos reduce las concentraciones de amonio, nitritos y nitratos en el agua, lo cual coincide con los resultados de este experimento.

9. Conclusiones

- La inclusión de probiótico y prebióticos en la dieta del pez espada no mejoró su incremento en talla y peso ni tampoco su coloración.
- El tratamiento donde solo se adicionó el mezquite como fuente prebiótica mejoró la supervivencia de los peces.

Referencias.

Álvarez Naváez, D. J. (2023). El estado del arte de los probióticos en la agricultura. *Acta pesquera*, 13.

Anacona Idrobo, H. D. (2021). Efectos del alimento enriquecido con prebióticos y probióticos en el crecimiento y aprovechamiento nutritivo de tilapia roja *Oreochromis spp.* Universidad Nacional de Colombia, 51.

Castro barrera, T., Monroy Dosta, M., Castro Mejía, J., De Lara Andrade, R., & Castro Mejía, G. (2011). Efectos de cuatro probióticos en el crecimiento y sobrevivencia de *Carassius auratus*. *INAPESCA*, 8.

Corzo, N., Alonso, J. L., Azpiroz, F., Calvo, M. A., Cirici, M., Leis, R. Clemente, A. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición hospitalaria*, 20.

Del Carmen & Fortoul. (2020). Uso del mezquite (*Prosopis spp.*) como recurso alimenticio. En *Biología* (18). Querétaro: ECORFAN-México.

Equipo editorial. (2022). *Bacillus subtilis*. Lifeder. Recuperado 22 de junio de 2022, de <https://www.lifeder.com/bacillus-subtilis/>

Gibson, R. y Roberfroid, M. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125

Gil R., G. L., Montoya M., C. E., Aréchiga P., M. a., Nolasco S., H., & Vega. V, F. (2015). Pigmentación, crecimiento y supervivencia de crías carpa koi (*Cyprinus Carpio Var. Haematopterus*) alimentadas con dieta con inclusiones de aceite de langostilla roja (*Pleuroncodes planipes*) oil. *E-gnosis*, 25.

GILDBERG, A., A. Johansen y J. Børgwald. 1995. Growth and survival of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry given diets supplemented with fish protein hydrolysate and lactic acid bacteria during a challenge trial with *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture* 138: 23-34

Gobierno de México. (2022). *Peces de ornato, más que belleza acuícola*. www.gob.mx/agricultura. Recuperado 17 de junio de 2022, de <https://www.gob.mx/conapesca/articulos/peces-de-ornato-mas-que-belleza-acuicola-154530>

Gómez Ramírez, E., Rodríguez, D., Hurtado, H., Arevalo Rivera, E., & Gómez Pérez, I. (2010). Estudio preliminar de la relación del tamaño corporal y la maduración testicular de *Xiphophorus hellerii*. *Researchgate*, 15.

Gutiérrez Ramírez, L. A., Inés Montoya, O., & Vélez Zea, J. M. (2013). *Probióticos: una alternativa de producción limpia y de reemplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal*. Colombia: Producción + Limpia.

Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. (2022). Descripción de la planta. 2022, de SEMARNAT Sitio web: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/72/descrip.html>

LILLY DM, STILLWELL RH. PROBIOTICS: GROWTH-PROMOTING FACTORS PRODUCED BY MICROORGANISMS. *Science*. 1965

Llanos, C., & Scotto, C. (2014). Comparación entre la obtención de crías por cruce natural versus la utilización de un inseminador artificial en el pez ornamental *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *redalyc.org*, 12.

Liao, S. F., & Nyachoti, M. (2017). *Using probiotics to improve swine gut health and nutrient utilization*. Mississippi: KeAi Advancing research evolving science.

Lujan, M. (2022). INFLUENCIA DE LOS PROBIÓTICOS SOBRE LA CALIDAD DEL AGUA EN EL CULTIVO INTENSIVO DE CAMARONES EN ESTANQUES. *Aquahoy*, 1.

Maya Peña, E., Marañón Herrera, S., & Salgado Zamora, H. (1999). Masculinización de *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae) inducida por los esteroides norgestrel y androstenediona. *ResearchGate*, 8.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2000). *Algunos elementos básicos de la acuicultura*. FAO.

Narayan, S., Kass, K.E., Thoma, SEA. (2007). El tratamiento crónico con haloperidol da como resultado una disminución en la expresión de mielina / oligodendrocito-genes relacionados en el cerebro del ratón. *J. Neurosci. Res.*, 85, 757-765.

Olveira Fuster, G., & Gonzalez Molero, I. (2007). *Probióticos y prebióticos en la práctica clínica*. Málaga: Unidad de Nutrición Clínica y Dietética.

Reyes Martínez, I., Pérez Morales, L., Morffi García, M., & Barletta Castillo, J. E. (2015). *Aislamiento de Rhodotorula. Presentación de un caso en paciente con leucemia mieloide aguda*. Cuba: Scielo.

Rodrigues, M., Bolívar, N., Legarda, E., Guimarães, A., Guertler, C., do Espírito Santo, C., Mourinho, J. L., Seiffert, W., Fracalossi, D., & do Nascimento Vieira, F. (2018). Mannoprotein dietary supplementation for Pacific white shrimp raised in biofloc systems. *Aquaculture*, 488, 90–95.

Rodríguez Saucedo, E., Rojo Martínez, G., Ramírez Valverde, B., Martínez Ruiz, R., Cong Hermida, M., Medina Torres, S., Piña Ruiz, H. (2014). ANÁLISIS TÉCNICO DEL ÁRBOL DEL MEZQUITE (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.) EN MÉXICO. *redalyc.org*, 23.

Sánchez, M., Ruíz, M., & Morale, M. (2015). Microorganismos probióticos y salud. *ScieLO*, 15.

Salazar A., B. C., & Montoya C., O. I. (2003). *Importancia de los probióticos y prebióticos en la salud humana*. Medellín: Redalyc.org.

Shariff, M.F., M. Yusoff, T.N. Devaraja & P.S. Srinivasa Rao. 2001. The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. *Aquac. Res.* 32: 181-187.

Valera, J. L., Ruiz Jarabo, I., Vargas Cachoff, L., Arijó, S., Leon Rubio, J. M., García Millán, I., y otros. (2010). Dietary administration of probiotic Pdp11 promotes growth and improves stress tolerance to high stocking density in gilthead seabream *Sparus auratus*. *ELSEVIER*, 265 – 271.

Zokaeifar, H., Babaei, N., Saad, C. R., Kamarudin, M. S., Sijam, K., & Balcazar, J. L. (2013). Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio harveyi* infection in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *ELSEVIER*, 7.