



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y OCEANOGRÁFICAS**



**Evaluación del crecimiento en el Salmón del Atlántico (*Salmo salar* Linnaeus, 1758)
alimentado con probiótico BX-1 en cautiverio.**



FRANCISCO ANGEL JORQUERA GONZÁLEZ

Seminario de Título presentado al
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA
DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

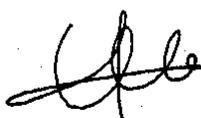
Para optar al Título de
BIÓLOGO MARINO

Concepción - Chile
2023

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Quien suscribe, Francisco Angel Jorquera González, 19.589.602-k, alumno de la carrera de Biología Marina, de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, de la Universidad de Concepción, declara ser autor de la tesis “Evaluación del crecimiento en el Salmón del Atlántico (*Salmo salar* Linnaeus, 1758) alimentado con probiótico BX-1 en cautiverio” y conceder derecho de publicación, comunicación al público y reproducción de esa obra, en forma total o parcial en cualquier medio y bajo cualquier forma del mismo, a la Universidad de Concepción, Chile, para formar parte de la colección material o digital de cualquiera de las bibliotecas de la Universidad de Concepción y del Repositorio UDEC. Esta autorización es de forma libre y gratuita, y considera la reproducción de la obra con fines académicos y de difusión tanto nacional como internacionalmente.

Asimismo, quien suscribe declara que dicha obra no infringe derechos de autor de terceros.



FIRMA

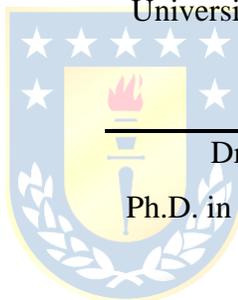
Este Seminario de Título ha sido realizado en el Departamento de Oceanografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas.

Profesor Guía

Dr. Ariel Valenzuela Saldías
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción, Concepción

Ha sido aprobada por la
Siguiente Comisión Evaluadora:

Mg. Jorge Silva Acosta
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción, Concepción



Dr. Paul Sepúlveda Mellado
Ph.D. in Technology, Luleå University of
Technology, Suecia
TS Swedish Innovation Products SPA

Dr. Ariel Valenzuela Saldías
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción, Concepción

Jefe de Carrera

Dr. Ariel Valenzuela Saldías
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción, Concepción

DEDICATORIA

A mi madre, a mi padre Orlando, a mi hermana, y a mi abuelo Porfirio...

Gracias a ellos por formar parte de este camino



“Underneath darkened skies

There's a light kept alive”

“It's just a spark but it's enough to keep me going

And when it's dark out and no one's around it keeps glowing”

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi madre por su apoyo incondicional, por ayudarme a crecer, por su sabiduría, por sus consejos, por su amor y sus retos durante estos años. A papá Colicheo por sus consejos y por el apoyo incondicional pese a todo. A mi hermana por estar presente en este camino. A mi abuela por su amor y a mi abuelo que ya no está aquí por sus sabias palabras, por esos momentos de pesca y por enseñarme lo valioso en la vida.

A Alex por ser mi compañero durante años en una ciudad donde todo era nuevo, gracias por estar ahí cuando más lo necesite. A su familia, en especial a su padre por su apoyo.

A Coni por su apoyo, amistad y paciencia en momentos difíciles.

Al Dr. Ariel Valenzuela por aceptar ser mi profesor guía, por su paciencia, su confianza, por sus consejos, por su apoyo durante este tiempo y por brindarme un espacio en su laboratorio.



A Mg. Jorge Silva por aceptar ser parte de mi comisión, por su conocimiento y por su apoyo en los muestreos.

Al Dr. Paul Sepúlveda por aceptar ser parte de mi comisión, por confiarnos el proyecto y por su financiamiento que hizo posible el desarrollo de la investigación.

A Niza Agurto por su apoyo, paciencia, conocimiento y disposición durante los ensayos.

A Bernardo Fuentealba por su conocimiento y disposición para resolver dudas.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE ANEXOS	xiii
1 RESUMEN	1
2 ABSTRACT	2
3 INTRODUCCIÓN	3
3.1 Hipótesis.....	10
3.2 Objetivo general	10
3.2.1 Objetivos específicos	10
4 MATERIALES Y METODOS	11
4.1 Descripción del sistema de cultivo.....	11
4.2 Procedencia y aclimatación de los peces.....	11
4.3 Elaboración y caracterización del alimento.....	12
4.4 Alimentación	13
4.5 Recambio de agua y limpieza de los estanques.....	13
4.6 Parámetros fisicoquímicos del agua.....	13
4.7 Diseño experimental.....	13
4.7.1 Ensayo 1-A.....	14
4.7.2 Ensayo 1-B	14
4.7.3 Ensayo 2.....	15
4.8 Evaluación de crecimiento y eficiencia de alimentación	16
4.8.1 Muestras biométricos	16
4.8.2 Evaluación de crecimiento	17
4.8.3 Evaluación de la eficiencia de alimentación	18

4.9	Evaluación del bienestar animal.....	18
4.9.1	Factor de condición (FC)	18
4.9.2	Mortalidad.....	18
4.9.3	Análisis de parámetros sanguíneos	19
4.10	Análisis estadístico	20
5	RESULTADOS	21
5.1	Ensayo 1-A.....	21
5.1.1	Crecimiento.....	21
5.1.2	Factor de conversión de alimento (FCR)	22
5.1.3	Factor de condición (FC) y mortalidad	23
5.2	Ensayo 1-B	25
5.2.1	Crecimiento.....	25
5.2.2	Factor de conversión de alimento (FCR)	26
5.2.3	Factor de condición (FC) y nivel de mortalidad	27
5.3	Ensayo 2	28
5.3.1	Crecimiento.....	28
5.3.2	Factor de conversión de alimento (FCR)	29
5.3.3	Factor de condición (FC) y nivel de mortalidad	30
5.4	Análisis de parámetros sanguíneos.....	31
6	DISCUSIÓN	34
6.1	Crecimiento	34
6.2	Eficiencia de alimentación	36
6.3	Bienestar animal de los peces.....	37
7	CONCLUSIONES	41
8	BIBLIOGRAFÍA	42

9 ANEXOS49



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción acuícola mundial,1991-2020. Fuente: FAO, 2022b.	3
Figura 2. (a) Cosechas por grupo de especies, mayo de 2022. (b) Principales cosechas por recurso acumuladas a mayo del 2022 Fuente: SUBPESCA, 2022.	4
Figura 3. Efecto de la dieta mezclada con BX-1 en la supervivencia de pollos infectados en el campo con virus de la enfermedad de Newcastle (VEN). Fuente: Murakami et al. (2020).	6
Figura 4. (a) Fotografía del sistema de recirculación acuícola (SRA) y (b) los estanques del Laboratorio de Piscicultura y Patología Acuática (LPPA) de la Universidad de Concepción.....	11
Figura 5. Fotografías de los instrumentos utilizados para los estudios biométricos (a) balanza, (b) ictiómetro.	17
Figura 6. Centrifuga MiniSpin Eppendorf con las muestras sanguíneas en tubos Eppendorf.....	20
Figura 7. Fluctuación del (a) peso y (b) longitud en los ejemplares del ensayo 1-A durante 70 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).	21
Figura 8. Fluctuación de la (a) tasa de crecimiento específico (SGR) y del (b) coeficiente térmico de crecimiento (TGC ₃) en los ejemplares del ensayo 1-A durante 70 días. Los valores corresponden al promedio del grupo. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).	22
Figura 9. Factor de conversión de alimento (FCR) de los ejemplares del ensayo 1-A. (azul) FCR biológico, (gris) FCR económico, (CT-1A) grupo control con dieta D-0 del ensayo 1-A, (D1-1A) grupo con dieta D-1 del ensayo 1-A, (D2-1A) grupo con dieta D-2 del ensayo 1-A, (D2/0,9-1A) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) del ensayo 1-A.....	23
Figura 10. Fluctuación del factor de condición (FC) en los ejemplares del ensayo 1-A durante 70 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Azul marino)	

grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).24

Figura 11. Fluctuación de la mortalidad en los ejemplares del ensayo 1-A durante 70 días. (Gris) mortalidad acumulada, (azul) total de los ejemplares muertos (CT-1A) grupo control con dieta D-0 del ensayo 1-A, (D1-1A) grupo con dieta D-1 del ensayo 1-A, (D2-1A) grupo con dieta D-2 del ensayo 1-A, (D2/0,9-1A) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) del ensayo 1-A.24

Figura 12. Fluctuación del (a) peso y (b) longitud en los ejemplares del ensayo 1-B durante 42 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).25

Figura 13. Fluctuación de la (a) tasa de crecimiento específico (SGR) y del (b) coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3) en los ejemplares del ensayo 1-B durante 42 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).26

Figura 14. Factor de conversión de alimento (FCR) de los ejemplares del ensayo 1-B. (azul) FCR biológico, (gris) FCR económico, (CT-1B) grupo control con dieta D-0 del ensayo 1-B, (D1-1B) grupo con dieta D-1 del ensayo 1-B, (D2-1B) grupo con dieta D-2 del ensayo 1-B, (D2/0,9-1B) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) del ensayo 1-B.27

Figura 15. Fluctuación del factor de condición (FC) en los ejemplares del ensayo 1-B durante 42 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).28

Figura 16. Fluctuación del (a) peso, (b) longitud, (c) tasa de crecimiento específico (SGR) y (d) coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3) en los ejemplares del ensayo 2 durante 39 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1 y (azul grisáceo) grupo con dieta D-2.29

Figura 17. Factor de conversión de alimento (FCR) de los ejemplares del ensayo 2. (azul) FCR biológico, (gris) FCR económico, (CT-2) grupo control con dieta D-0 del ensayo 2, (D1-2) grupo con dieta D-1 del ensayo 2 y (D2-2) grupo con dieta D-2 del ensayo 2....30

Figura 18. Fluctuación del factor de condición (FC) en los ejemplares del ensayo 2 durante 39 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1 y (azul grisáceo) grupo con dieta D-2.31

Figura 19. Fluctuación de la glucosa (a), proteínas totales (b), colesterol (c), triglicéridos (d), fosfatasa alcalina (e) y cortisol (f) en *S. salar* en los (1-A) ensayo 1-A, (1-B) ensayo 1-B y (2) ensayo 2. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).33



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes y composición proximal de las dietas.....	12
Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos iniciales del agua en los ensayos 1-A, 1-B y 2. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar.	13
Tabla 3. Diseño experimental del ensayo 1-A con datos iniciales por grupos de <i>S. Salar</i> de las condiciones, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar.....	14
Tabla 4. Diseño experimental del ensayo 1-B con datos iniciales por grupos de <i>S. Salar</i> de las condiciones, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar.....	15
Tabla 5. Diseño experimental del ensayo 2 con datos iniciales por grupos de <i>S. Salar</i> de las condiciones, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar.....	16



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de los residuos desprendidos del pellet de calibre 2 mm. Residuos de las dieta (a) D-0, (b) D-1 y (c) D-2.....49



1 RESUMEN

En la acuicultura, la alimentación suele representar la tasa más alta en costos. Se ha descrito que el uso de probióticos confiere beneficios a los peces como mejorar la salud, el crecimiento y la conversión alimenticia. Uno de los probióticos que brinda los beneficios anteriores es el BX-1 a través de microorganismos como la bacteria ácido láctico (BAL) *Pediococcus* sp. y las levaduras *Pichia* sp. y *Dekkera* sp. Sin embargo, estos beneficios a la salud y crecimiento solo se conocen en especies terrestres y no así para las acuáticas. Se postula que considerando los efectos positivos descritos para las especies que conforman el consorcio microbiano del probiótico BX-1 sobre crecimiento y el estado de salud de los animales, la utilización de este nuevo probiótico en el alimento para *S. salar* en la etapa de agua dulce inducirá un mayor rendimiento en crecimiento y sin efectos negativos en la salud de los peces.

Se evaluó el efecto del probiótico BX-1 en *S. salar* en tres dietas: dieta comercial sin dosis probiótico BX-1(D-0), dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (1%) (D-1) y dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (2%) (D-2). El estudio consistió en tres ensayos 1-A, 1-B y 2, donde se evaluó el crecimiento mediante el peso, longitud, la tasa de crecimiento específico (SGR) y el coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3). La eficiencia de alimentación por el factor de conversión de alimento (FCR). El bienestar animal por medio del factor de condición (FC), mortalidad y análisis de parámetros sanguíneos.

Los resultados del crecimiento en talla y peso en los ensayos (1-A, 1-B, 2) no mostraron diferencias significativas, pero si una tendencia al aumento en peso y una disminución en el SGR y TGC_3 en los grupos alimentados con el probiótico. En la eficiencia de alimentación de los ensayos, el SFR se mantuvo en promedio entre 90-100g y los FCR no mostraron diferencias significativas, pero si una tendencia a la disminución en los grupos alimentados con probiótico. Los resultados para la evaluación del estado de salud en el análisis de parámetros sanguíneos mostraron que los peces estaban en buen estado. En conclusión, el uso del probiótico BX-1 como aditivo en la dieta de *S. salar* podría mejorar el crecimiento, la eficiencia de alimentación y el estado de salud.

2 ABSTRACT

In aquaculture, feed usually represents the highest rate of cost. The use of probiotics has been described as conferring benefits to fish such as improved health, growth and feed conversion. One of the probiotics that provides the above benefits is BX-1 through microorganisms such as the lactic acid bacterium (LAB) *Pediococcus* sp. and the yeasts *Pichia* sp. and *Dekkera* sp. However, these benefits to health and growth are only known for terrestrial species and not for aquatic ones. It is postulated that considering the positive effects described for the species that make up the microbial consortium of the probiotic BX-1 on growth and the health status of the animals, the use of this new probiotic in food for *S. salar* in the water stage sweet will induce a higher growth performance and without negative effects on the health of the fish.

The effect of the probiotic BX-1 on *S. salar* was evaluated in three diets: commercial diet without BX-1 probiotic dose (D-0), commercial diet + BX-1 probiotic dose (1%) (D-1) and diet commercial + BX-1 probiotic dose (2%) (D-2). The study consisted of three trials 1-A, 1-B and 2, where growth was evaluated by weight, length, specific growth rate (SGR) and thermal growth coefficient (TGC₃). Feed efficiency by feed conversion factor (FCR). Animal welfare through the condition factor (FC), mortality and analysis of blood parameters.

The results of the growth in height and weight in the trials (1-A, 1-B, 2) did not show significant differences, but a tendency to increase in weight and a decrease in SGR and TGC₃ in the groups fed with the probiotic. In the feeding efficiency of the trials, the SFR remained on average between 90-100g and the FCR did not show significant differences, but a downward trend in the groups fed with probiotics. The results for the evaluation of the state of health in the analysis of blood parameters showed that the fish were in good condition. In conclusion, the use of the probiotic BX-1 as an additive in the diet of *S. salar* could improve growth, feeding efficiency and health status.

3 INTRODUCCIÓN

La acuicultura es el cultivo de organismos acuáticos (peces, moluscos, crustáceos y plantas) tanto en zonas costeras como del interior que implica intervenciones en el proceso de cría para aumentar la producción (FAO, 2022a). La producción acuícola mundial en 2020 alcanzó un récord de 122,6 millones de toneladas (**Figura 1**) donde un 49,2% perteneció a la acuicultura de animales acuáticos predominando especies como la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idellus*) con un 11,8% en la acuicultura continental y el salmón del atlántico (*S. salar*) con un 32,6% en acuicultura marina y costera (FAO, 2022b). Los salmónidos han contribuido a la acuicultura como especies versátiles y de alto valor donde destacan importantes productores como Noruega, Chile, Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Canadá, Japón y Grecia (FAO, 2020). Para el 2020 en términos de valor las exportaciones de salmón fueron de 27.6 mil millones de USD liderado por Noruega y Chile, donde este último figuró como el segundo productor más grande del mundo (FAO, 2022b).

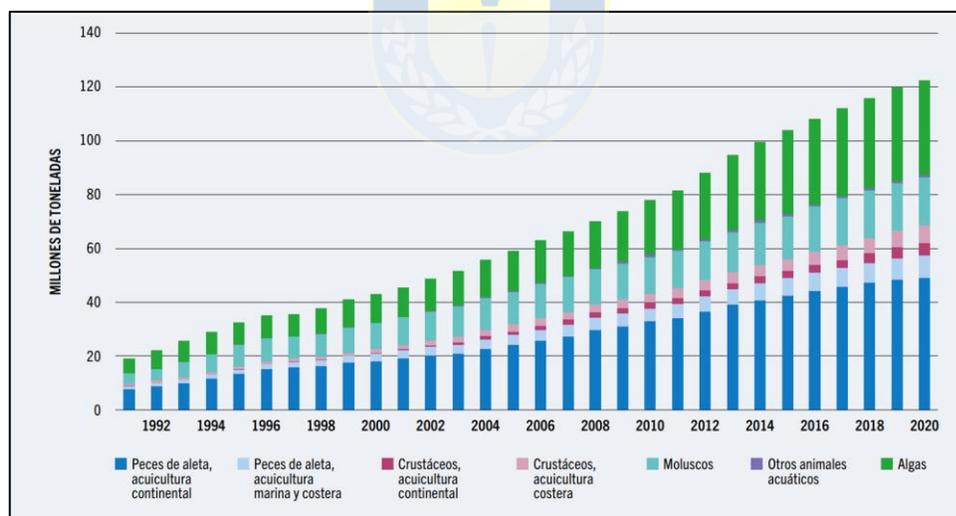


Figura 1. Producción acuícola mundial, 1991-2020. Fuente: FAO, 2022b.

En la acuicultura chilena se registraron desembarques en cosechas acumuladas a mayo del 2022 de 625 mil toneladas, cifra 2,7% menor al año 2021 (**Figura 2 (a)**), donde los peces aportaron con el 60,4% del total de la acuicultura mientras que los moluscos un

38,7% y algas 0,9%; siendo las principales especies de salmónidos cosechados el salmón del atlántico (*S. salar*) con un 46,9%, salmón del pacífico (*O. kisutch*) un 8,2% y trucha arcoíris (*O. mykiss*) un 5,3% (**Figura 2 (b)**) (SUBPESCA, 2022). La salmonicultura en Chile ha experimentado un crecimiento de ingresos por exportaciones debido al aumento de los precios y a la fuerte demanda mundial en las Américas, Europa y Asia, donde las exportaciones destacaron con el 83,1% correspondiente a salmónidos (FAO, 2020; SUBPESCA, 2022).

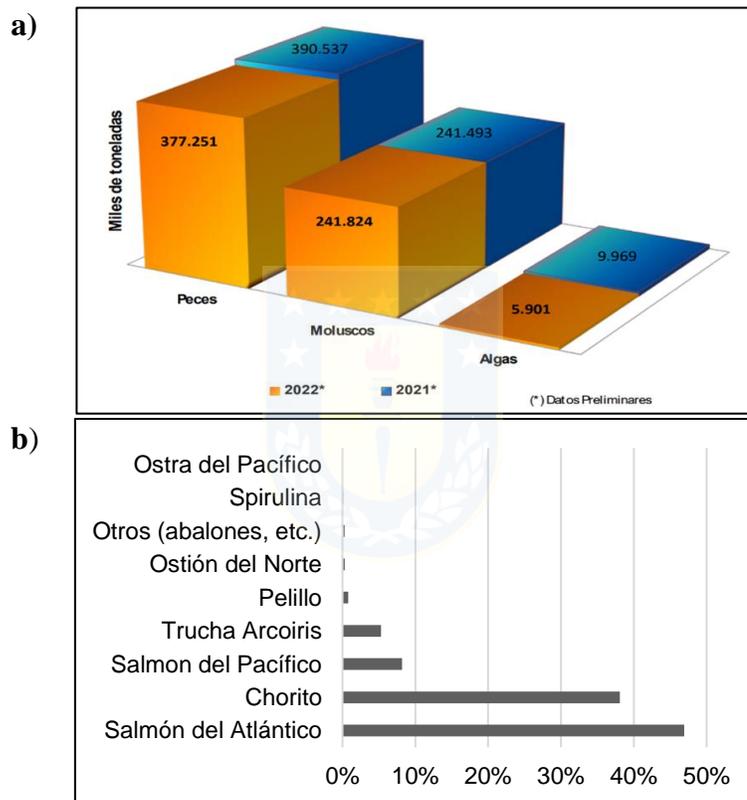


Figura 2. (a) Cosechas por grupo de especies, mayo de 2022. (b) Principales cosechas por recurso acumuladas a mayo del 2022 Fuente: SUBPESCA, 2022.

Sin embargo, existe considerable evidencia por World Wildlife Fund (WWF) indicando el impacto de la salmonicultura en los ecosistemas como por contaminación local por nutrientes, desechos de alimentos y fecas, contaminación química local por uso de tratamientos químicos, efecto sobre la fauna silvestre por peces escapados e impacto ambiental global, entre otros (FAO, 2009). Se prevé que para 2030 un 62% de la

producción acuícola mundial este compuesta en su mayoría por especies de agua dulce, así mismo un aumento en la producción de especies de mayor valor (camarón, salmón y trucha) y un aumento en los costos de alimentación debido a una menor disponibilidad de harina y aceite de pescado (FAO, 2020). De este modo en el cultivo de salmones la alimentación se vuelve fundamental ya que suele representar la tasa más alta en costos en la acuicultura, alrededor del 50% de las operaciones (Salmonexpert, 2018).

En este contexto es que cualquier medio que permita alcanzar los objetivos de producción definidos como: 1.- tener la mayor cantidad de peces en el menor volumen de agua posible y 2.- tener el máximo de peces en el menor tiempo posible, son siempre deseables y apuntan a medios que permitan incrementar el crecimiento. Uno de los aditivos al alimento que estimula el crecimiento, pero además la respuesta inmune, la sobrevivencia, aumenta la resistencia a enfermedades, aumenta el apetito, mejora la conversión alimenticia, favorecen el estado de salud y de este modo el crecimiento en peces de cultivos son los probióticos (Pérez-Chabela et al., 2020). Los probióticos han sido definidos por la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) como microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios para la salud del huésped (FAO, 2001). En acuicultura el uso de estos es amplia, variada y con diversos efectos productivos, generalmente se están evaluando nuevos probióticos para su uso en cultivo de peces y uno nuevo para la salmonicultura como BX-1 de TSST-Energy Ltda.

BX-1 es un probiótico obtenido desde una fuente natural compuesto principalmente de microorganismos como la bacteria ácido láctica (BAL) *Pediococcus* sp. y levaduras como *Pichia* sp. y *Dekkera* sp., es decir es un consorcio microbiano vivo en estado latente. Es utilizado como un aditivo alimenticio cuyas principales propiedades son tolerancia a pH bajo en el tracto intestinal, multiplicación celular rápida, establecimiento rápido en el tracto digestivo de los animales y activo a bajas concentraciones. (TSST, 2022). Del consorcio microbiano se conoce su aplicación sobre especies terrestres (e.g. cerdos, aves y ratas) pero no así para especies acuáticas, aun cuando el proveedor del

probiótico sugiere que existe un efecto importante en camarones. Sin embargo, estos datos no se encuentran respaldados por artículos científicos. Según Murakami et al. (2020) el probiótico disminuye la mortalidad en aves infectadas con el paramixovirus (agente causante de la enfermedad de Newcastle) (**Figura 3**), debido a que podrían mejorar la función biológica en las aves y suprimir la infección viral o reducir la gravedad de la enfermedad, debido a la ingesta de bacterias que activaría a los linfocitos natural killer (NK) lo que sugiere una relación entre la microflora en el tracto digestivo y la inmunidad.

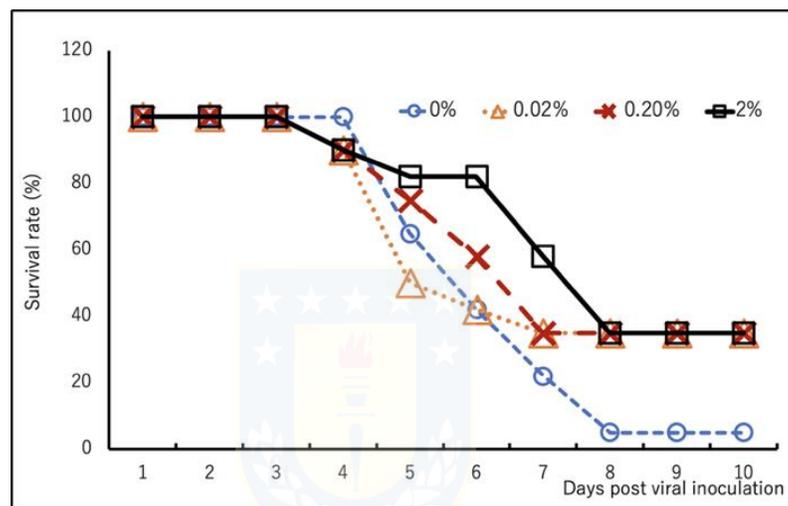
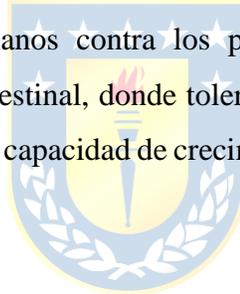


Figura 3. Efecto de la dieta mezclada con BX-1 en la supervivencia de pollos infectados en el campo con virus de la enfermedad de Newcastle (VEN). Fuente: Murakami et al. (2020).

El probiótico está constituido por BAL caracterizadas por producir ácido láctico como el principal producto de la fermentación, comprendiendo un diverso grupo de organismos Gram-positivos (König & Fröhlich, 2017). *Pediococcus sp.* es un tipo de BAL en forma de coco, Gram-positivo, inmóvil y homofermentativo con características anaeróbicas facultativas y de degradación de carbohidratos (Jiang et al., 2021). Son aislados de los alimentos en especial los fermentados, como encurtidos, productos lácteos y salchichas, también se encuentran en carnes, vegetales y heces humanas (Qi et al., 2021). Son utilizadas en alimentos para proporcionar una amplia variedad de beneficios tales como reducción del pH en el intestino, producción de enzimas digestivas y vitaminas,

producción de sustancias antibacterianas como bacteriocinas, reconstrucción y construcción de la microflora intestinal, entre otros (Parra, 2010).

La mayoría de los *Pediococcus* aislados tienen efectos probióticos con actividad antibacteriana, antioxidantes, bioconservantes, entre otros (Qi et al., 2021). Sin embargo, se desconoce los efectos secundarios, usos y dosis (Jiang et al, 2021). Estudios en diversas especies de peces como el pargo japonés (*Pagrus major*) muestran que estimula la ingesta de alimento, mejora el crecimiento y las condiciones de salud de esta especie (Dawood et al., 2016). En la carpa común (*Cyprinus carpio*) recomiendan su uso para mejorar el rendimiento del crecimiento, la actividad de las enzimas digestivas y las respuestas hemato-inmunológicas (Ahmadifar et al., 2020) y en *S. salar* se demostró que la suplementación en la dieta puede modular la respuesta antiviral (Jaramillo-Torres et al., 2019). Por otro lado, se ha encontrado evidencia de que en *S. salar* los BAL además de producir compuestos antimicrobianos contra los patógenos poseen la capacidad de colonización en el tracto gastrointestinal, donde tolera las condiciones gastrointestinales (estómago e intestino) con una alta capacidad de crecimiento y adhesión al moco intestinal (Amin, et al., 2017).



Las levaduras pueden interactuar con las BAL de forma natural logrando favorecer su crecimiento mediante la producción de aminoácidos y nitrógeno para su supervivencia (Zoumpourtikoudi et al., 2018). De este modo BX-1 se compone de levaduras como *Millerozyma (Pichia)* y *Brettanomyces (Dekkera)*. Son de importancia en la producción de alimentos y se encuentran en suelos, aguas dulces y saladas, tracto digestivo de mamíferos y como simbióticas en insectos (Cepero de García, 2012). También se sabe que las levaduras presentan propiedades antimicrobianas, probióticas y se ha informado que actúan como probióticos para humanos, ganado, pez cebra y artemia (Zoumpourtikoudi et al., 2018).

Pichia es una levadura diploide halotolerante que puede producir altos rendimientos de glicerol y xilitol, aislada desde la producción de alimentos (e. g. bebidas alcohólicas fermentadas, pasta de soja, entre otros) y la fermentación, destacando

características como la producción de toxinas antibacterianas (Hong et al., 2018). Estudios han demostrado sus propiedades probióticas en ratones observando una notable actividad antibacteriana contra *Salmonella typhimurium* (França et al., 2015) y en aves de corral (Gil de los Santos et al., 2018). Por otra parte, según Wang & Kim (2019) han demostrado que la adición del probiótico complejo (*Bacillus subtilis* y *Pichia farinosa*) en las dietas mejoró el crecimiento en los cerdos y la ganancia diaria promedio aumento significativamente en las dietas con 0,2 % de probiótico, así mismo, indican que una concentración más baja de probiótico al 0,1% no fue adecuada para alterar las poblaciones microbianas intestinales de los cerdos lo que afectaría el rendimiento del crecimiento.

Dekkera sp. es una levadura anaeróbica facultativa que se encuentra en diferentes alimentos fermentados (e. g. vino, refrescos, lácteos) (Schifferdecker et al., 2014). Destacando características como producción de ácido acético en condiciones aeróbicas, absorción de azúcar y metabolismo energético eficiente (Passoth et al., 2007). Utiliza nitrato y posee tolerancia alta a inhibidores como otros microbios o químicos presentes en el medio de fermentación (Steensels et al., 2015).

En el contexto de probióticos utilizados en salmonicultura el probiótico BX-1 es un aditivo, el cual basado en las propiedades de cada uno de sus componentes ofrecería ventajas sobre otros probióticos. Sin embargo, el complejo microbiano no ha sido evaluado en su conjunto en ninguna de las etapas del desarrollo en salmónidos. La industria de alimentos de salmónes es una actividad de alta exigencia que demanda estudios científicos que prueben la factibilidad del uso de estos nuevos aditivos ya sea por sus propiedades beneficiosas, así como por la evaluación de efectos secundarios negativos.

De este modo para la utilización del probiótico BX-1 en *S. salar* es relevante evaluar la tolerancia e inocuidad del probiótico mediante análisis sanguíneos que permitan monitorear tanto el estado de salud como nutricional de los peces a través de enzimas y metabolitos en la sangre (Sáez et al., 2018). La glucosa es la principal fuente de energía y sustrato esencial para el metabolismo celular (Malini et al., 2018). Los aumentos en la glucemia se inducen por la presencia de factores estresantes como cambios en la

composición de la dieta, tratamiento con hormonas, privación de alimentos e hipoxia (Polakof et al., 2012). Las proteínas totales (albúmina y globulina) se utilizan como un indicador de la condición fisiológica de los peces, en la evaluación de la salud, el estado de estrés y la condición corporal (Peyghan et al., 2014; Kandalski et al., 2019). Su disminución se asocia a ayuno, desnutrición, disfunción hepática, infecciones producidas por patógenos, entre otras (Cáceres, 2018). El colesterol es un precursor de hormonas que se utiliza como indicador del estado nutricional, de la función endocrina y de la integridad de órganos vitales (hígado y riñones) (Mohamed et al., 2019). Se ha asociado su aumento a una alta proporción de grasas en la composición de los alimentos y a la administración de plaguicidas en ambientes acuáticos (Sáez et al., 2018; Vega, 2013). Los triglicéridos son lípidos sintetizados en el hígado que constituyen el almacenamiento de energía (Müller & Bittencourt, 2021). Se utiliza como indicador del estado nutricional, de la función endocrina y de la integridad de órganos vitales (hígado y riñones) (Mohamed et al., 2019). La fosfatasa alcalina es una enzima que está presente en los tejidos como intestino, riñón, hueso e hígado, su aumento indica lesiones intestinales, daños renales, raquitismo, entre otros efectos (Washington & Van Hoosier, 2012). Es sensible a cambios de temperatura, episodios de ayuno y mal nutrición (Müller & Bittencourt, 2021). El cortisol es la principal hormona corticosteroide en los peces, utilizado como indicador del bienestar y su producción responde a condiciones de estrés como enfermedades, mala calidad del agua, anestésicos, entre otros (Ellis et al., 2012).

En resumen, debido a la inexistencia de antecedentes de los efectos del probiótico BX-1 en *S. salar* y los potenciales beneficios que la incorporación de esta mezcla de probióticos puede significar para la actividad salmonera es relevante abordar esta problemática para aportar con un probiótico probado y seguro para esta industria. Especialmente si junto a sus propiedades mejora el crecimiento de los peces y a su vez promueve el estado de la salud lo que se traduciría en la disminución de los costos productivos asociados a la alimentación debido a que con la misma cantidad de alimento los peces crecerán en menor tiempo por una mejora en la absorción de nutrientes promovido por el aditivo BX-1.

3.1 Hipótesis

Considerando los efectos positivos descritos para las especies que conforman el consorcio microbiano del probiótico BX-1 sobre crecimiento y el estado de salud de los animales, la utilización de este nuevo probiótico en el alimento para *S. salar* en la etapa de agua dulce inducirá un mayor rendimiento en crecimiento y sin efectos negativos en la salud de los peces.

3.2 Objetivo general

Evaluar el efecto del probiótico BX-1 en la especie de *S. salar* cultivado en un sistema de recirculación acuícola (SRA).

3.2.1 Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento y la eficiencia de alimentación en los peces alimentados con probiótico BX-1 como aditivo por medio de los parámetros zootécnicos.
- Evaluar el bienestar animal de los peces alimentados con el probiótico BX-1 por medio de los parámetros sanguíneos, la mortalidad y el factor de condición.



4 MATERIALES Y METODOS

4.1 Descripción del sistema de cultivo

Los estudios se realizaron en el Laboratorio de Piscicultura y Patología Acuática (LPPA) de la Universidad de Concepción, el que cuenta con sistemas de recirculación acuícola (SRA) (**Figura 4**), sistema de control de temperatura y de aireación constante. Previa recepción de los peces se realizó la sanitización del sistema, además del ajuste de parámetros fisicoquímicos y el análisis microbiológico del agua.

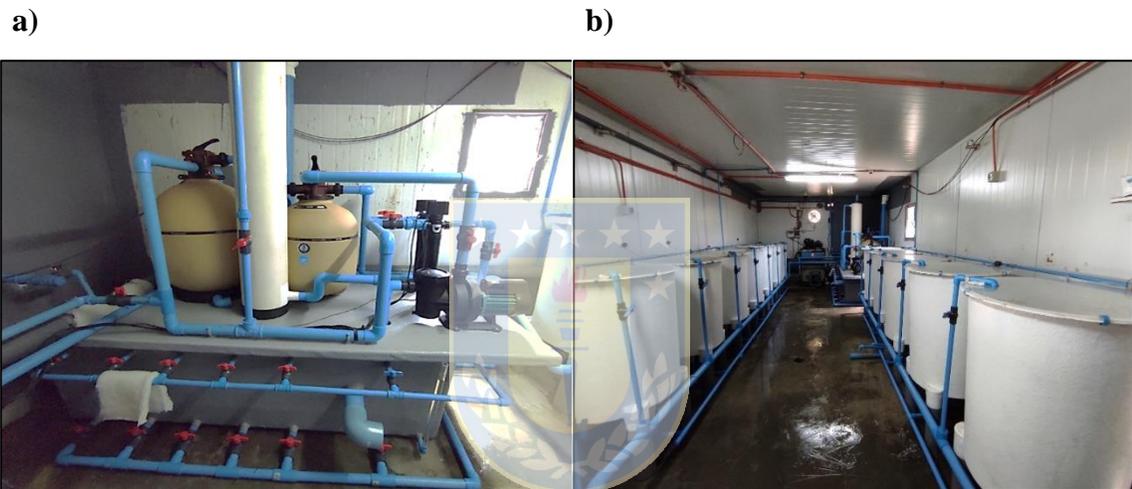


Figura 4. (a) Fotografía de la planta de tratamiento de recirculación acuícola (SRA) y (b) los estanques del Laboratorio de Piscicultura y Patología Acuática (LPPA) de la Universidad de Concepción.

4.2 Procedencia y aclimatación de los peces

Se obtuvieron 750 juveniles de *S. salar* con un peso inicial de 45g en promedio, procedentes de Salmones Camanchaca del centro “unidad productora de smolts (UPS) Petrohue”, los que fueron trasladados a las instalaciones del LPPA. La aclimatación se realizó durante un periodo de dos semanas en estanques de 400 L con 250 peces en cada uno, como medida profiláctica se mantuvieron durante todos los ensayos al 5‰ de salinidad para prevenir infecciones por hongos. Los peces fueron alimentados con dieta comercial a una ración diaria del 1 % de la biomasa de cada estanque.

4.3 Elaboración y caracterización del alimento

El alimento utilizado a partir de la mezcla comercial fue proporcionado por la empresa Salmofood y la adición de BX-1 al pellet se realizó en el Laboratorio de Nutrición y Fisiología de Peces del Departamento de Ciencias Agropecuarias y Acuícolas de la Universidad Católica de Temuco. Se formularon tres dietas (D-0: dieta comercial sin dosis probiótico BX-1, D-1: dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (1%) y D-2: dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (2%)) en calibres de 2 y 4 mm cuya composición proximal e ingredientes se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1. *Ingredientes y composición proximal de las dietas.*

Ingredientes (%)	D-0	D-1	D-2
Harina de pescado	51,25	51,25	51,25
Concentrado proteico de soya	12,44	12,44	12,44
Sub productos de trigo	12	12	12
Gluten de maíz	5	5	5
Biomasa (proplex)	2	2	2
Lisina sulfato	1,07	1,07	1,07
Premix vit min	0,8	0,8	0,8
Fosfato Monoamónico	0,3	0,3	0,3
Astaxantina 10%	0,04	0,04	0,04
Antioxidante	0,03	0,03	0,03
Aceite de pescado	8,61	8,61	8,61
Aceite vegetal	6,46	5,46	4,46
Probiótico BX1	0	1	2
Análisis proximal (%)			
Materia seca 105°C	96,69	96,76	96,73
Proteína	53,23	54,12	54,56
Extracto Etéreo	19,25	18,29	17,01
Fibra	1,38	1,18	1,35
Cenizas Totales	9,45	9,55	9,81
Extracto no nitrogenado	16,7	16,87	17,28
Fósforo	1,44	1,41	1,41
Energía Bruta (MJ/Kg)	23,73	23,39	23,24

Nota: (D-0) dieta comercial sin dosis probiótico BX-1, (D-1) dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (1%), (D-2) dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (2%).

4.4 Alimentación

La alimentación de los ejemplares se especifica según las dietas, raciones, calibre y frecuencia para el ensayo 1-A (**Tabla 3**), ensayo 1-B (**Tabla 4**) y ensayo 2 (**Tabla 5**). Las raciones se suministraron de modo manual dos veces al día (mañana y tarde).

4.5 Recambio de agua y limpieza de los estanques

Se realizaron recambios de agua (20% del total) dos veces por semana y a diario la limpieza de los estanques que consistió en retirar la materia orgánica y los restos de alimento.

4.6 Parámetros fisicoquímicos del agua

Los parámetros fisicoquímicos del agua en los ensayos (1-A, 1-B y 2) se realizaron bajo condiciones semejantes (**Tabla 2**), se midieron y registraron a diario.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos iniciales del agua en los ensayos 1-A, 1-B y 2. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar.

Parámetros fisicoquímicos	Ensayos		
	1-A	1-B	2
Temperatura (°C)	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33
Salinidad (‰)	\leq 5	\leq 5	\leq 5
pH	6 - 6,5	6 - 6,5	6 - 6,5
Oxígeno disuelto (mg/L)	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49

Nota: (1-A) ensayo 1-A, (1-B) ensayo 1-B, (2) ensayo 2.

4.7 Diseño experimental

Los peces fueron distribuidos según las dietas (D-0, D-1, D-2) en 12 estanques de 180L para los ensayos (1-A y 1-B) y en 3 estanques de 400 L para el ensayo 2, con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Los grupos fueron (CT) control

con dieta D-0, (D1) grupo con dieta D-1, (D2) grupo con dieta D-2 y (D2/0,9) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) para cada ensayo.

4.7.1 Ensayo 1-A

Se distribuyeron los peces de forma aleatoria en estanques de 200 L, los datos iniciales por grupo (CT-1A, D1-1A, D2-1A y D2/0,9-1A) de las condiciones, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua en el ensayo se muestran en la **Tabla 3**. Cada grupo se trabajó en triplicado durante un periodo de 70 días.

Tabla 3. Diseño experimental del ensayo 1-A con datos iniciales por grupos de *S. salar* de las condiciones, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar.

Datos Iniciales	Grupos			
	CT-1A	D1-1A	D2-1A	D2/0,9-1A
Número de individuos	40	40	40	40
Peso (g)	44,57 \pm 2,34	45,87 \pm 2,82	46,13 \pm 2,32	45,07 \pm 2,71
Talla (cm)	15,80 \pm 0,49	15,90 \pm 0,39	15,90 \pm 0,28	15,87 \pm 0,55
Densidad de cultivo (Kg/m ³)	9,90	10,19	10,25	10,02
Alimento				
Dieta	D-0	D-1	D-2	D-2
Ración (%)	1	1	1	0,9
Calibre (mm)	2	2	2	2
Frecuencia diaria	2	2	2	2
Parámetros fisicoquímicos				
Temperatura (°C)	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33
Salinidad (‰)	\leq 5	\leq 5	\leq 5	\leq 5
pH	6 - 6,5	6 - 6,5	6 - 6,5	6 - 6,5
Oxígeno disuelto (mg/L)	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49

Nota: (D-0) dieta comercial sin dosis probiótico BX-1, (D-1) dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (1%), (D-2) dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (2%), (CT-1A) grupo control con dieta D-0 del ensayo 1-A, (D1-1A) grupo con dieta D-1 del ensayo 1-A, (D2-1A) grupo con dieta D-2 del ensayo 1-A, (D2/0,9-1A) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) del ensayo 1-A.

4.7.2 Ensayo 1-B

El ensayo 1-B corresponde la continuación del ensayo 1-A con un cambio en el calibre del alimento de 2 a 4mm. Los peces permanecieron en los estanques de 200L con

los cuatro grupos (CT-1B, D1-1B, D2-1B y D2/0,9-1B), cuyos datos iniciales de las condiciones por grupo, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua se muestran en la **Tabla 4**. Cada grupo se trabajó en triplicado durante un periodo de 42 días.

Tabla 4. Diseño experimental del ensayo 1-B con datos iniciales por grupos de *S. salar* de las condiciones, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar.

Datos Iniciales	Grupos			
	CT-1B	D1-1B	D2-1B	D2/0.9-1B
Número de individuos	20	20	20	20
Peso (g)	99,66 \pm 15,37	100,55 \pm 14,49	100,59 \pm 15,63	91,65 \pm 14,05
Talla (cm)	20,19 \pm 1,03	20,10 \pm 0,98	20,14 \pm 1,03	19,66 \pm 1,01
Densidad de cultivo (Kg/m ³)	11,07	11,17	11,18	10,18
Alimento				
Dieta	D-0	D-1	D-2	D-2
Ración (%)	1	1	1	0,9
Calibre (mm)	4	4	4	4
Frecuencia diaria	2	2	2	2
Parámetros fisicoquímicos				
Temperatura (°C)	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33
Salinidad (‰)	\leq 5	\leq 5	\leq 5	\leq 5
pH	6 - 6,5	6 - 6,5	6 - 6,5	6 - 6,5
Oxígeno disuelto (mg/L)	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49

Nota: (D-0) dieta comercial sin dosis probiótico BX-1, (D-1) dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (1%), (D-2) dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (2%), (CT-1B) grupo control con dieta D-0 del ensayo 1-B, (D1-1B) grupo con dieta D-1 del ensayo 1-B, (D2-1B) grupo con dieta D-2 del ensayo 1-B, (D2/0,9-1B) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) del ensayo 1-B.

4.7.3 Ensayo 2

En simultaneo al ensayo 1-B se implementó el ensayo 2, donde los peces se distribuyeron en tres grupos (CT-2, D1-2 y D2-2) de manera aleatoria en estanques de 400L del cual sus datos iniciales de las condiciones por grupo, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua se muestran en la **Tabla 5**. Cada grupo se trabajó durante un periodo de 39 días.

Tabla 5. Diseño experimental del ensayo 2 con datos iniciales por grupos de *S. salar* de las condiciones, del alimento y los parámetros fisicoquímicos del agua. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar.

Datos iniciales	Grupos		
	CT-2	D1-2	D2-2
Número de individuos	20	20	20
Peso (g)	85,30 \pm 3,05	85,20 \pm 3,56	84,05 \pm 3,33
Talla (cm)	19,28 \pm 0,44	19,10 \pm 0,70	18,93 \pm 0,78
Densidad de cultivo (Kg/m ³)	4,27	4,26	4,20
Alimento			
Dieta	D-0	D-1	D-2
Ración (%)	2	2	2
Calibre (mm)	4	4	4
Frecuencia diaria	2	2	2
Parámetros fisicoquímicos			
Temperatura (°C)	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33	15,49 \pm 0,33
Salinidad (‰)	\leq 5	\leq 5	\leq 5
pH	6 - 6,5	6 - 6,5	6 - 6,5
Oxígeno disuelto (mg/L)	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49	9,82 \pm 0,49

Nota: (D-0) dieta comercial sin dosis probiótico BX-1, (D-1) dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (1%), (D-2) dieta comercial + dosis probiótico BX-1 (2%), (CT-2) grupo control con dieta D-0 del ensayo 2, (D1-2) grupo con dieta D-1 del ensayo 2, (D2-2) grupo con dieta D-2 del ensayo 2.

4.8 Evaluación de crecimiento y eficiencia de alimentación

4.8.1 Muestreos biométricos

En los ensayos (1-A, 1-B y 2) se realizaron estudios biométricos que consistieron en muestreos en el que se registró el peso y la longitud de todos los ejemplares previo ayuno de 12 horas, realizándose al inicio y cada quince días. Para su manipulación fueron sedados con una solución acuosa de benzocaína al 20% en una concentración de 2 ml por cada 10 litros de agua. Una vez sedados se registró el peso a través de una balanza Ohaus (\pm 0,5g) (**Figura 5 (a)**) y la longitud de horquilla por medio de un ictiómetro (\pm 0,5cm) (**Figura 5 (b)**), por último, los peces son recuperados de la sedación y regresados a los estanques.

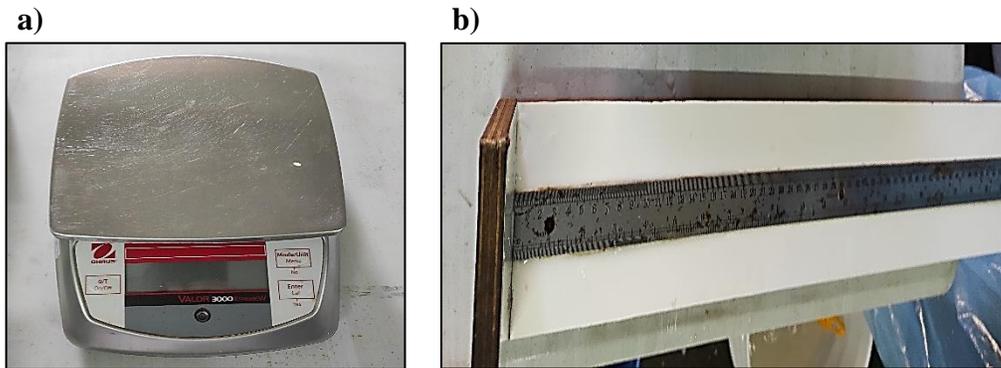


Figura 5. Fotografías de los instrumentos utilizados para los estudios biométricos (a) balanza, (b) ictiómetro.

4.8.2 Evaluación de crecimiento

Para la evaluación del crecimiento de los peces en los ensayos (1-A, 1-B y 2) se midieron los siguientes parámetros:

4.8.2.1 Tasa de Crecimiento Específico (SGR)

$$SGR = \left(\frac{\ln FW - \ln IW}{n} \right) \times 100$$

Donde; IW= peso inicial (g), FW= peso final (g), n= número de días del período, Ln= logaritmo natural (neperiano).

4.8.2.2 Coeficiente Térmico de Crecimiento (TGC₃)

$$TGC = 1000 \times \frac{(FW)^{1/3} - (IW)^{1/3}}{UTA}$$

Donde; IW= peso inicial (g), FW= peso final (g), UTA= Unidades Térmicas Acumuladas

4.8.3 Evaluación de la eficiencia de alimentación

Para la evaluación de la eficiencia del alimento en los ensayos (1-A, 1-B y 2) se midieron los siguientes parámetros:

4.8.3.1 Factor de Conversión de Alimento (FCR) económico (FCRe) y biológico (FCRb).

$$\text{FCRe} = \frac{\text{Peso total de alimento entregado}}{(\text{Biomasa Final} - \text{Biomasa inicial})}$$

$$\text{FCRb} = \frac{\text{Peso total de alimento entregado}}{(\text{Biomasa Final} - \text{Biomasa inicial} + \text{Biomasa de peces muertos})}$$

4.9 Evaluación del bienestar animal



Para la evaluación del bienestar animal de los peces en los ensayos (1-A, 1-B y 2), se midieron los siguientes parámetros:

4.9.1 Factor de condición (FC)

$$\text{FC} = \frac{W \times 100}{L^3}$$

Donde; W: peso (g) y L: longitud de cada pez (cm)

4.9.2 Mortalidad

4.9.2.1 Registro y clasificación de la mortalidad

La mortalidad de los peces sometidos en los ensayos fue registrada a diario, extraída y clasificada, esta considero en el acumulado aquellas producidas sin causa

aparente o ejemplares dados de baja por su inviabilidad para continuar en los ensayos, como presentar problemas agudos con hongos o no tolerar manejos profilácticos. Para realizar el cálculo de la mortalidad acumulada se utilizó la siguiente formula:

$$\text{Mortalidad por estanque} = \frac{\text{número de muertos por causa}}{\text{total de peces al inicio del día}} \times 100$$

$$\text{Mortalidad total diaria} = \frac{\text{número total de muertos por causa}}{\text{total de peces al inicio del día}} \times 100$$

4.9.3 Análisis de parámetros sanguíneos

4.9.3.1 Toma de muestras sanguíneas

Se realizó la toma de muestras sanguíneas al inicio del periodo de los ensayos (1-A, 1-B) y al término para el ensayo 2. Los peces fueron elegidos al azar de los estanques y anestesiados con benzocaína al 20% en una concentración de 2 ml por cada 10 litros de agua. Una vez evidenciado el efecto de la sedación en el pez (disminución de la tasa de ventilación medida por la frecuencia del movimiento opercular) se procedió a la obtención de las muestras, donde a cada ejemplar se le extrajo 1 ml de sangre mediante la punción del pedúnculo caudal con jeringas de 1 ml, trasvasada en tubos Eppendorf con anticoagulante (heparina). Las muestras fueron centrifugadas en una MiniSpin Eppendorf (**Figura 6**) a 7000 rpm por 10 minutos para la separación del plasma sanguíneo, el que fue almacenado a -20°C para su conservación y posterior análisis. Por último, los peces son recuperados de la sedación en recipientes sin anestesia con aeración constante y regresados a los estanques.



Figura 6. Centrifuga MiniSpin Eppendorf con las muestras sanguíneas en tubos Eppendorf.

4.9.3.2 Técnicas para la determinación de los parámetros sanguíneos

La técnica analítica para la determinación de los parámetros sanguíneos (glucosa, proteínas totales, colesterol, triglicéridos, fosfatasa alcalina y cortisol) consistió en la espectrofotometría de absorbancia. Para determinar los parámetros del plasma se utilizaron kits de ensayos clínicos Spinreact y HumaTrol N estandarizados para su uso en peces, y para las mediciones se usó un espectrofotómetro Riele 5010.

4.10 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados obtenidos consistió en analizar y definir los parámetros de crecimiento, eficiencia de alimentación y del bienestar animal de los peces. Donde se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro Wilks, para determinar la homocedasticidad se aplicó un test de Bartlett, posteriormente para comparar las medias T Student para muestras independientes o un test no paramétrico Kruskal-Wallis.

5 RESULTADOS

5.1 Ensayo 1-A

5.1.1 Crecimiento

Los resultados en peso y longitud en los ejemplares del ensayo 1-A por grupos (CT-1A, D1-1A, D2-1A y D2/0,9-1A) generados en 70 días se muestran en la **Figura 7**. En ambas variables se observa un incremento de todos los grupos, siendo menor desde el día 28 para D2/0,9-1A en comparación a CT-1A, D1-1A y D2-1A. Sin embargo, estas diferencias que aumentan con el tiempo no son estadísticamente significativas ($p>0.05$).

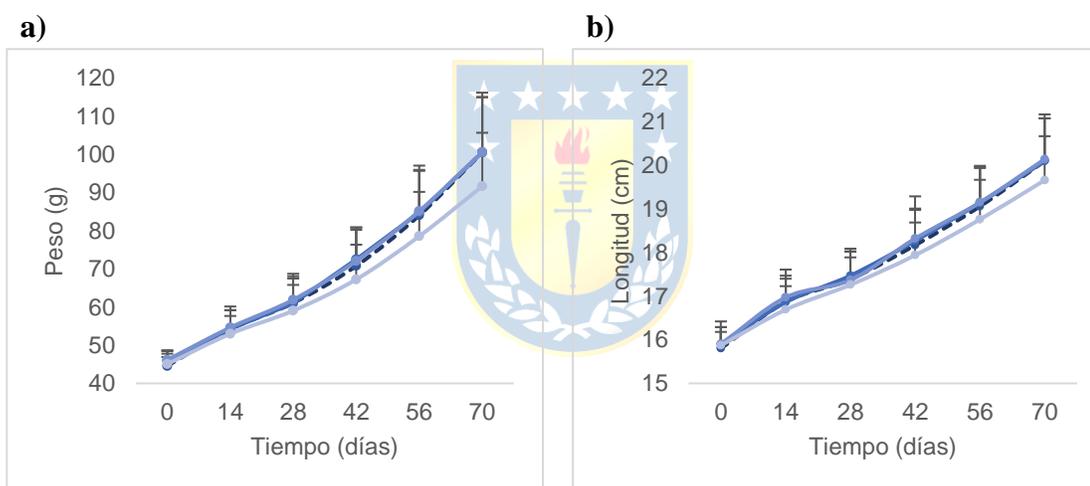


Figura 7. Fluctuación del (a) peso y (b) longitud en los ejemplares del ensayo 1-A durante 70 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).

La tasa de crecimiento específico (SGR) y el coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3) del ensayo 1-A por grupos generados en 70 días se muestran en la **Figura 8**. En ambas tasas se observa una disminución al día 28 en todos los grupos para luego incrementar y presentar diferencias en el tiempo en específico entre CT-1A y D2/0,9-1A,

este último mostro las menores tasas de crecimiento. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p>0.05$).

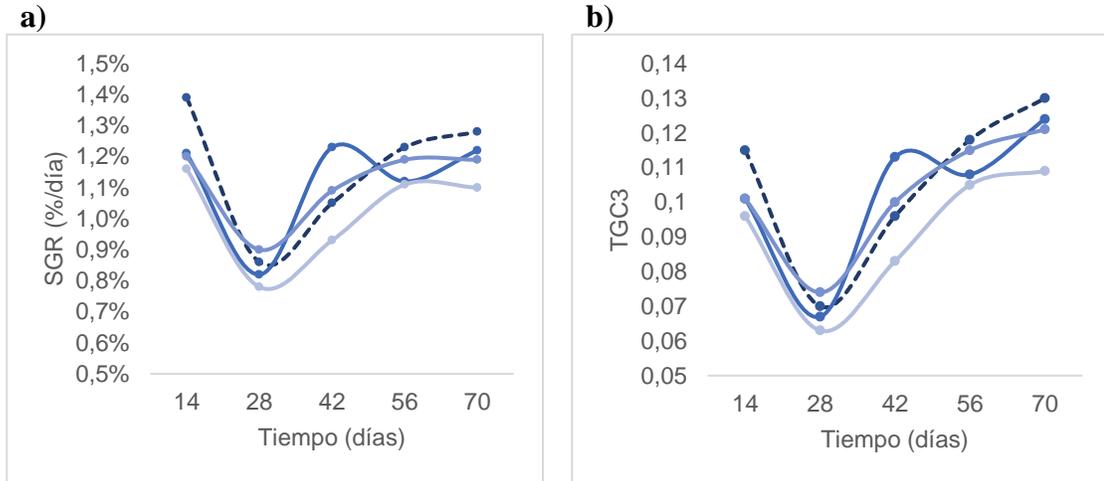


Figura 8. Fluctuación de la (a) tasa de crecimiento específico (SGR) y del (b) coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3) en los ejemplares del ensayo 1-A durante 70 días. Los valores corresponden al promedio del grupo. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).

5.1.2 Factor de conversión de alimento (FCR)

Los factores de conversión de alimento (FCR) biológico (FCR_b) y económico (FCR_e) se muestran en la **Figura 9**, donde los mayores factores los exhibe el grupo D2-1A y los menores el grupo D1-1A. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p>0.05$).

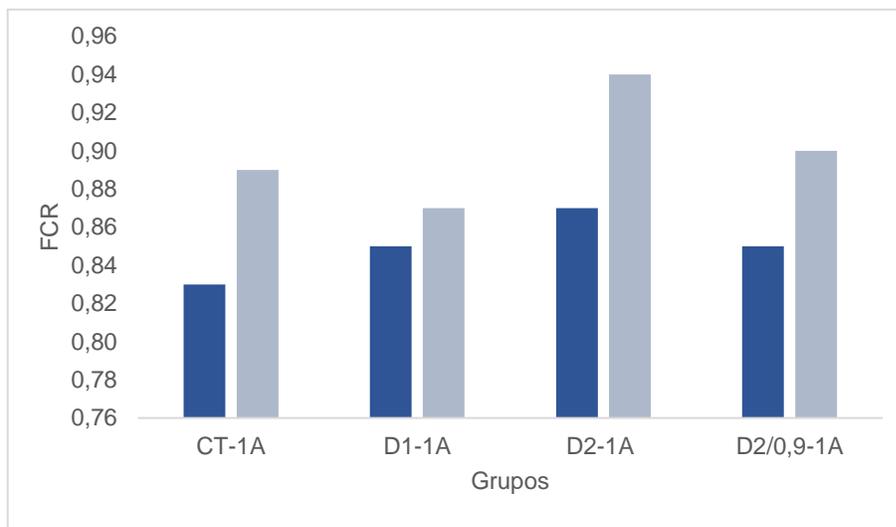


Figura 9. Factor de conversión de alimento (FCR) de los ejemplares del ensayo 1-A. (azul) FCR biológico, (gris) FCR económico, (CT-1A) grupo control con dieta D-0 del ensayo 1-A, (D1-1A) grupo con dieta D-1 del ensayo 1-A, (D2-1A) grupo con dieta D-2 del ensayo 1-A, (D2/0,9-1A) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) del ensayo 1-A.

5.1.3 Factor de condición (FC) y mortalidad

El factor de condición (FC) del ensayo 1-A de los ejemplares por grupos (CT-1A, D1-1A, D2-1A y D2/0,9-1A) generados en 70 días se muestra en la **Figura 10**, sus valores se han mantenido en promedio entre 1,05 y 1,25 para todos grupos. Así mismo, no se observa diferencias estadísticamente significativas en los grupos del ensayo ($p > 0.05$).

La mortalidad del ensayo 1-A se muestra en la **Figura 11**, donde el grupo D2-1A presentó la tasa más alta en mortalidad acumulada de 23% y para CT-1A de 20%, mientras que para los grupos D1-1A y D2/0,9-1A bajo el 12%.

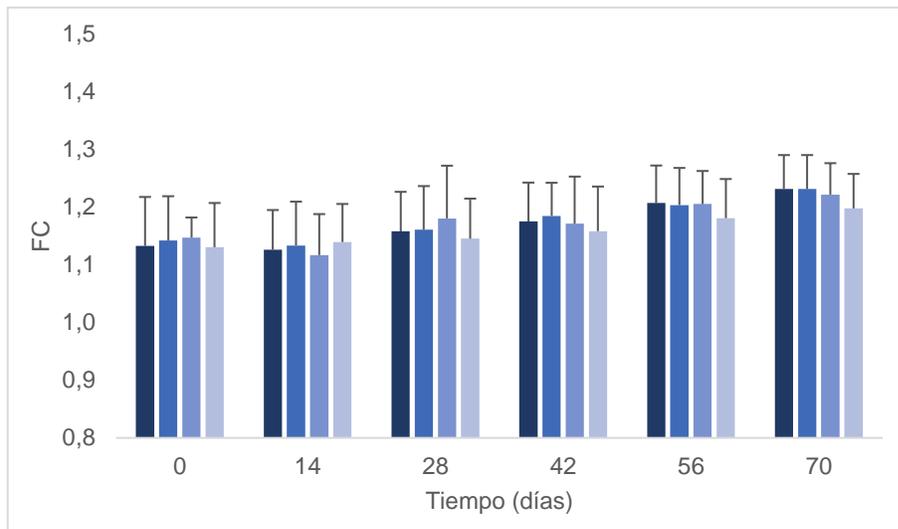


Figura 10. Fluctuación del factor de condición (FC) en los ejemplares del ensayo 1-A durante 70 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).

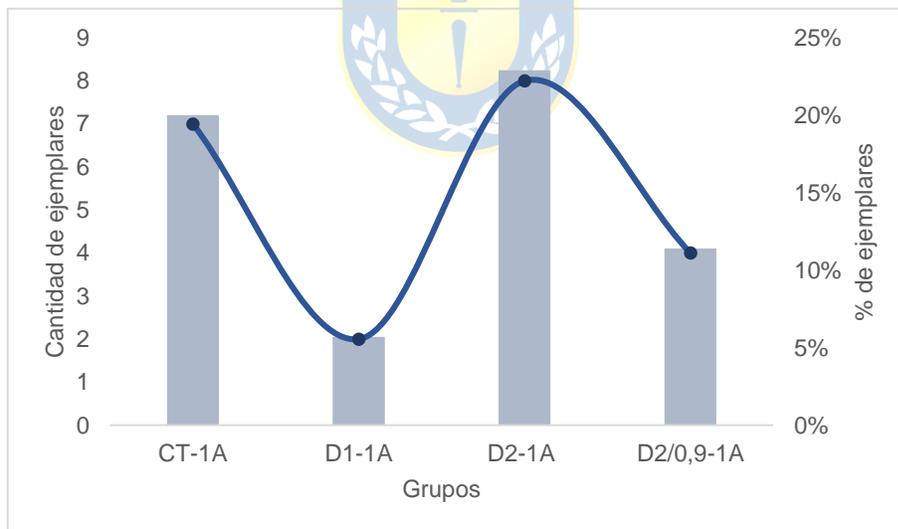


Figura 11. Fluctuación de la mortalidad en los ejemplares del ensayo 1-A durante 70 días. (Gris) mortalidad acumulada, (azul) total de los ejemplares muertos (CT-1A) grupo control con dieta D-0 del ensayo 1-A, (D1-1A) grupo con dieta D-1 del ensayo 1-A, (D2-1A) grupo con dieta D-2 del ensayo 1-A, (D2/0,9-1A) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) del ensayo 1-A.

5.2 Ensayo 1-B

5.2.1 Crecimiento

Los resultados en peso y longitud del ensayo 1-B por grupos (CT-1B, D1-1B, D2-1B y D2/0,9-1B) generados en 42 días se muestran en la **Figura 12**. En ambas variables se observa un incremento en el tiempo en todos los grupos, siendo mayor para el grupo D2-1B en comparación a CT-1B, D1-1B y D2/0,9-1B. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p>0.05$).

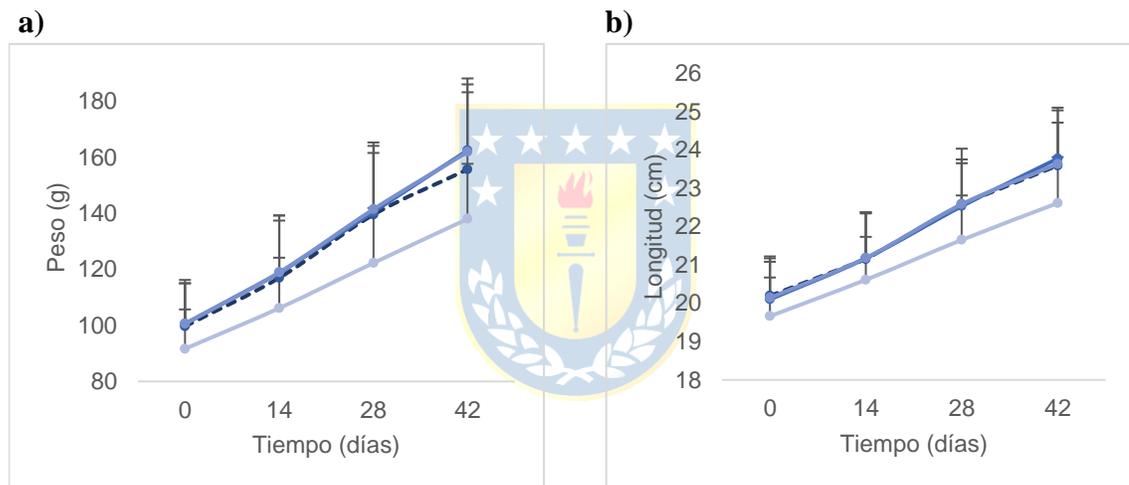


Figura 12. Fluctuación del (a) peso y (b) longitud en los ejemplares del ensayo 1-B durante 42 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).

La tasa de crecimiento específico (SGR) y el coeficiente térmico de crecimiento (TGC₃) del ensayo 1-B por grupos (CT-1B, D1-1B, D2-1B y D2/0,9-1B) generados en 42 días se muestran en la **Figura 13**. En ambas tasas se observa una disminución al día 42 en todos los grupos exhibiendo diferencias en el tiempo en específico entre D1-1B, D2/0,9-1B y CT-1B, este último mostro las menores tasas de crecimiento. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p>0.05$).

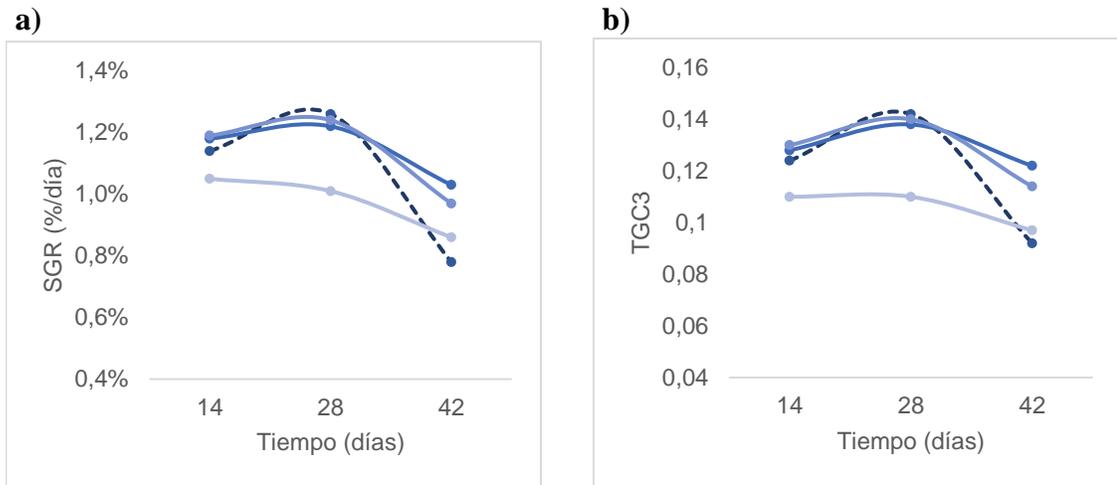


Figura 13. Fluctuación de la (a) tasa de crecimiento específico (SGR) y del (b) coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3) en los ejemplares del ensayo 1-B durante 42 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).



5.2.2 Factor de conversión de alimento (FCR)

Los factores de conversión de alimento (FCR) biológico (FCR_b) y económico (FCR_e) se muestran en la **Figura 14**, donde los mayores factores se exhiben en los grupos D2/0,9-1B y CT-1B, y los menores en D1-1B y D2-1B. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

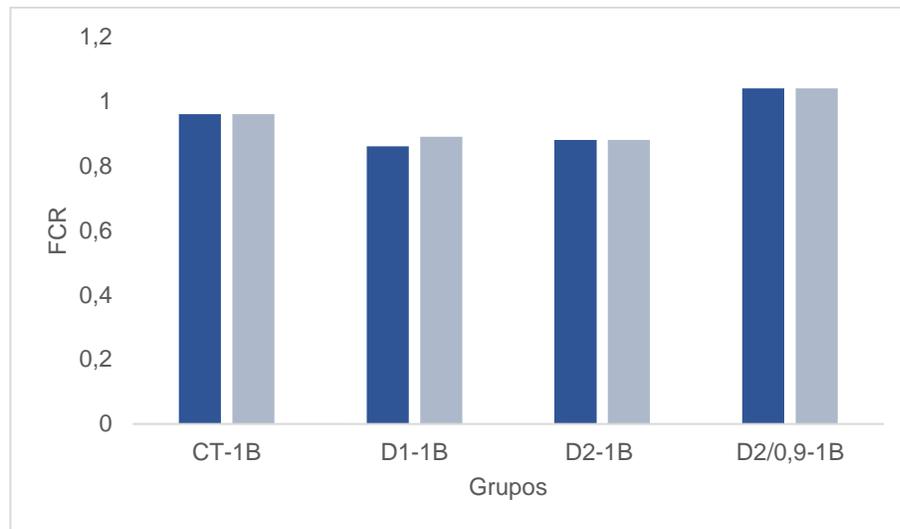


Figura 14. Factor de conversión de alimento (FCR) de los ejemplares del ensayo 1-B. (azul) FCR biológico, (gris) FCR económico, (CT-1B) grupo control con dieta D-0 del ensayo 1-B, (D1-1B) grupo con dieta D-1 del ensayo 1-B, (D2-1B) grupo con dieta D-2 del ensayo 1-B, (D2/0,9-1B) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %) del ensayo 1-B.

5.2.3 Factor de condición (FC) y nivel de mortalidad

El factor de condición (FC) del ensayo 1-B de los ejemplares por grupos (CT-1B, D1-1B, D2-1B y D2/0,9-1B) generados en 42 días se muestra en la **Figura 15**, sus valores se han mantenido en promedio entre 1,18 y 1,24 para todos grupos. Así mismo, no se observa diferencias estadísticamente significativas en los grupos del ensayo ($p > 0.05$).

De la mortalidad del ensayo 1-B solo el grupo D1-1B presentó la mortalidad de un individuo, lo que representa en términos acumulados un 5%.

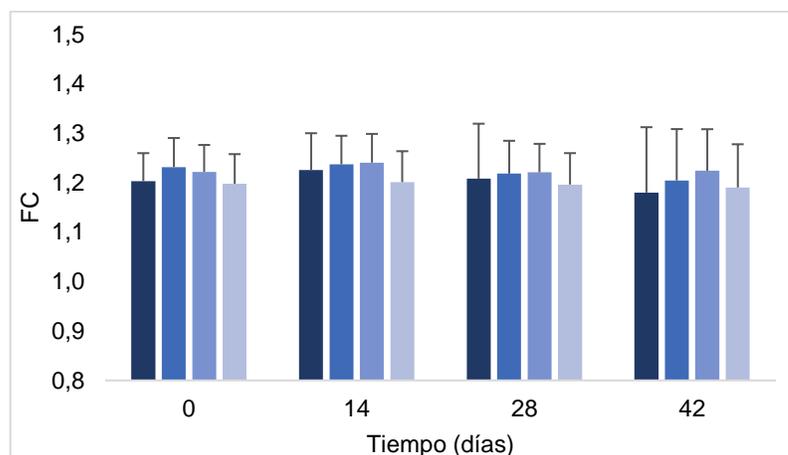


Figura 15. Fluctuación del factor de condición (FC) en los ejemplares del ensayo 1-B durante 42 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).



5.3 Ensayo 2

5.3.1 Crecimiento

Los resultados en peso y longitud en los ejemplares del ensayo 2 por grupos (CT-2, D1-2 y D2-2) generados en 39 días se muestran en la **Figura 16 (a)** y **(b)**. En ambas variables se observa un incremento de todos los grupos siendo mayor desde el día 25 para D1-2 y D2-2 en comparación a CT-2. Sin embargo, estas diferencias que aumentan con el tiempo no son estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

La tasa de crecimiento específico (SGR) y el coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3) del ensayo 2 por grupos (CT-2, D1-2 y D2-2) generados en 39 días se muestran en la **Figura 16 (c)** y **(d)**. En ambas tasas se observa un aumento en el grupo D2-2 en comparación a D1-2 y CT-2, siendo menor este último. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

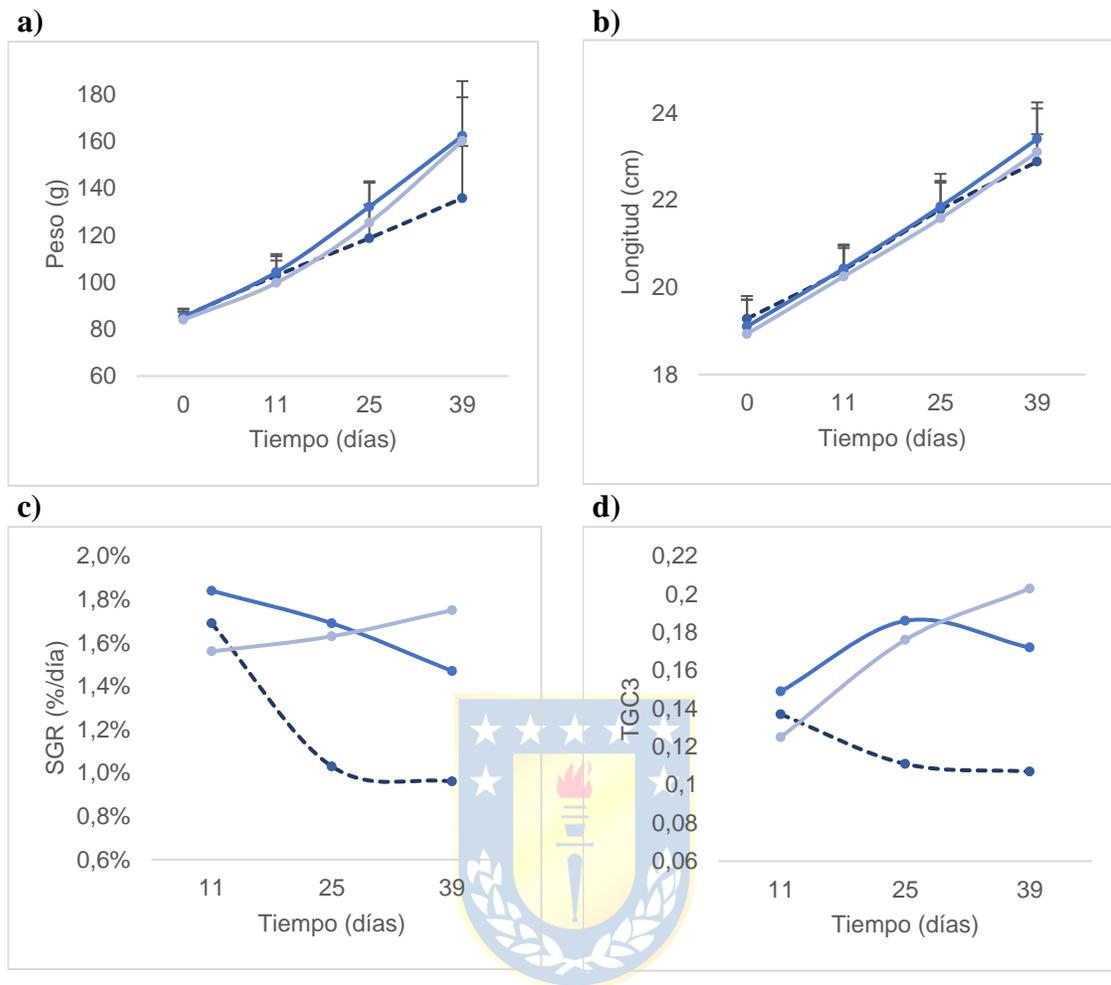


Figura 16. Fluctuación del (a) peso, (b) longitud, (c) tasa de crecimiento específico (SGR) y (d) coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3) en los ejemplares del ensayo 2 durante 39 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Línea segmentada azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1 y (azul grisáceo) grupo con dieta D-2.

5.3.2 Factor de conversión de alimento (FCR)

Los factores de conversión de alimento (FCR) biológico (FCRb) y económico (FCRe) se muestran en la **Figura 17**, el cual exhibe diferencias entre los tratamientos y el control, donde los mayores factores se observan en los grupos CT-2 (1,88) y los menores

en D1-2 (1,3) y D2-2 (1,28). Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p>0.05$).

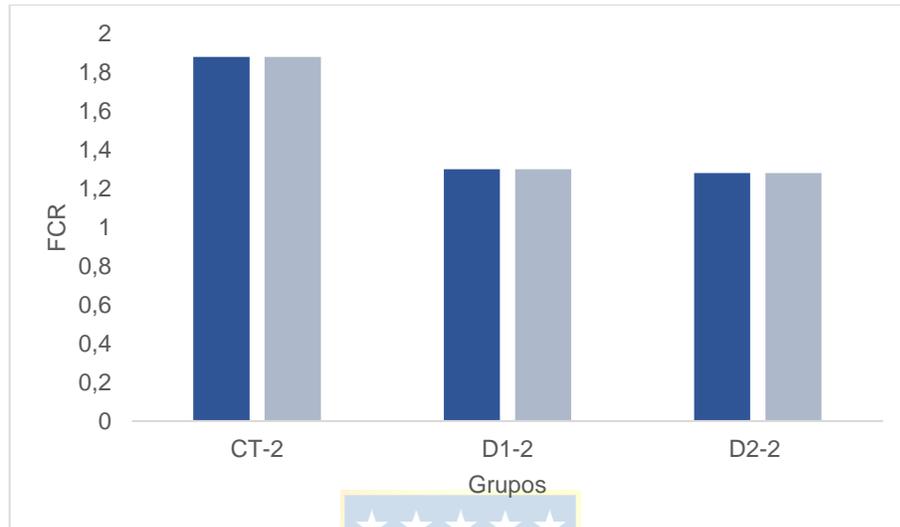


Figura 17. Factor de conversión de alimento (FCR) de los ejemplares del ensayo 2. (azul) FCR biológico, (gris) FCR económico, (CT-2) grupo control con dieta D-0 del ensayo 2, (D1-2) grupo con dieta D-1 del ensayo 2 y (D2-2) grupo con dieta D-2 del ensayo 2.

5.3.3 Factor de condición (FC) y nivel de mortalidad

El factor de condición (FC) del ensayo 2 de los ejemplares por grupos (CT2, D1-2 y D2-2) generados en 39 días se muestra en la **Figura 18**, sus valores se han mantenido en promedio entre 1,15 y 1,29 para todos grupos. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p>0.05$).

De la mortalidad mencionar que no se ha producido en los ejemplares sometidos durante el transcurso del ensayo 2.

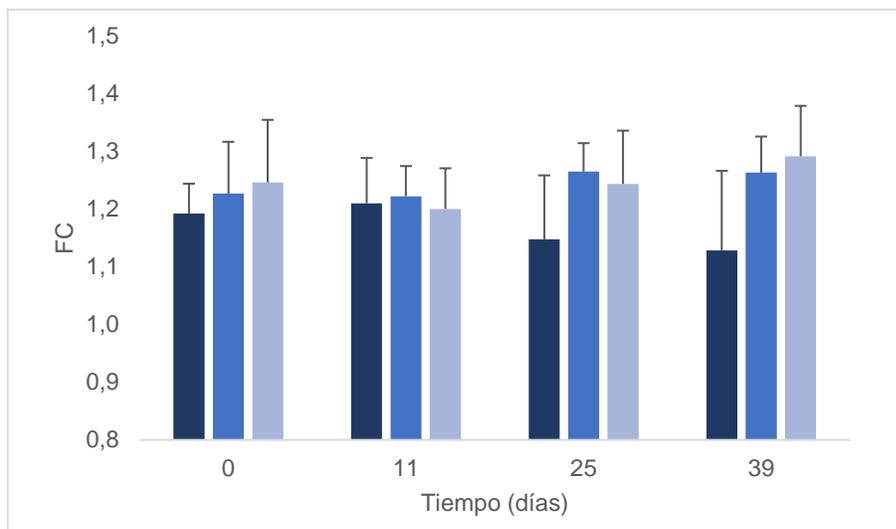


Figura 18. Fluctuación del factor de condición (FC) en los ejemplares del ensayo 2 durante 39 días. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (Azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1 y (azul grisáceo) grupo con dieta D-2.



5.4 Análisis de parámetros sanguíneos

Los resultados del análisis de parámetros sanguíneos en los ejemplares del ensayo 1-A, 1-B y 2 por grupos se muestran en la **Figura 19**.

En el ensayo 1-A se observan diferencias en los resultados de la glucosa, proteínas totales, colesterol, fosfatasa alcalina y cortisol en los grupos con las dietas D-1, D-2 y D-2/0.9 respecto al control. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0.05$). En los triglicéridos se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los grupos, se observó una disminución en el grupo con dieta D-1 ($t_{(24)}3.65$, $p=0.001$) y un aumento en los grupos D-2 ($t_{(23)}-2.17$, $p=0.04$) y D-2/0.9 ($t_{(17)}-2.41$, $p=0.03$) respecto al control.

En el ensayo 1-B se observan diferencias en los resultados de la glucosa y cortisol en los grupos con dieta D-1, D-2 y D-2/0.9 respecto al control. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en las proteínas totales que muestran una disminución en los grupos con las dietas D1 ($t_{(58)}3.08$, $p=0.003$), D-2 ($t_{(52)}5.45$, $p=0.000001$) y en D-2/0.9

($t_{(58)}2.08$, $p=0.04$), en el colesterol un aumento en D1($t_{(58)}-3.68$, $p=0.0005$) y una disminución en D-2/0.9 ($t_{(58)}2.49$, $p=0.02$), en los triglicéridos una disminución en D2 ($t_{(55)}2.14$, $p=0.03$) y un aumento en D-2/0.9 ($t_{(54)}-2.65$, $p=0.01$) , en la fosfatasa alcalina una disminución en D2 ($t_{(50)}2.97$, $p=0.004$) y un aumento en D-2/0.9 ($t_{(58)}-3.13$, $p=0.002$) respecto a los controles.

En el ensayo 2 se observan diferencias en los resultados de la glucosa, proteínas totales, fosfatasa alcalina y cortisol en los grupos con dieta D-1 y D-2 respecto al control. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p>0.05$). Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los triglicéridos que muestran una disminución en los grupo con dieta D-1 ($t_{(18)}2.56$, $p=0.02$) y en el colesterol un aumento en D-2 ($t_{(18)}-2.93$, $p=0.009$) respecto al control.



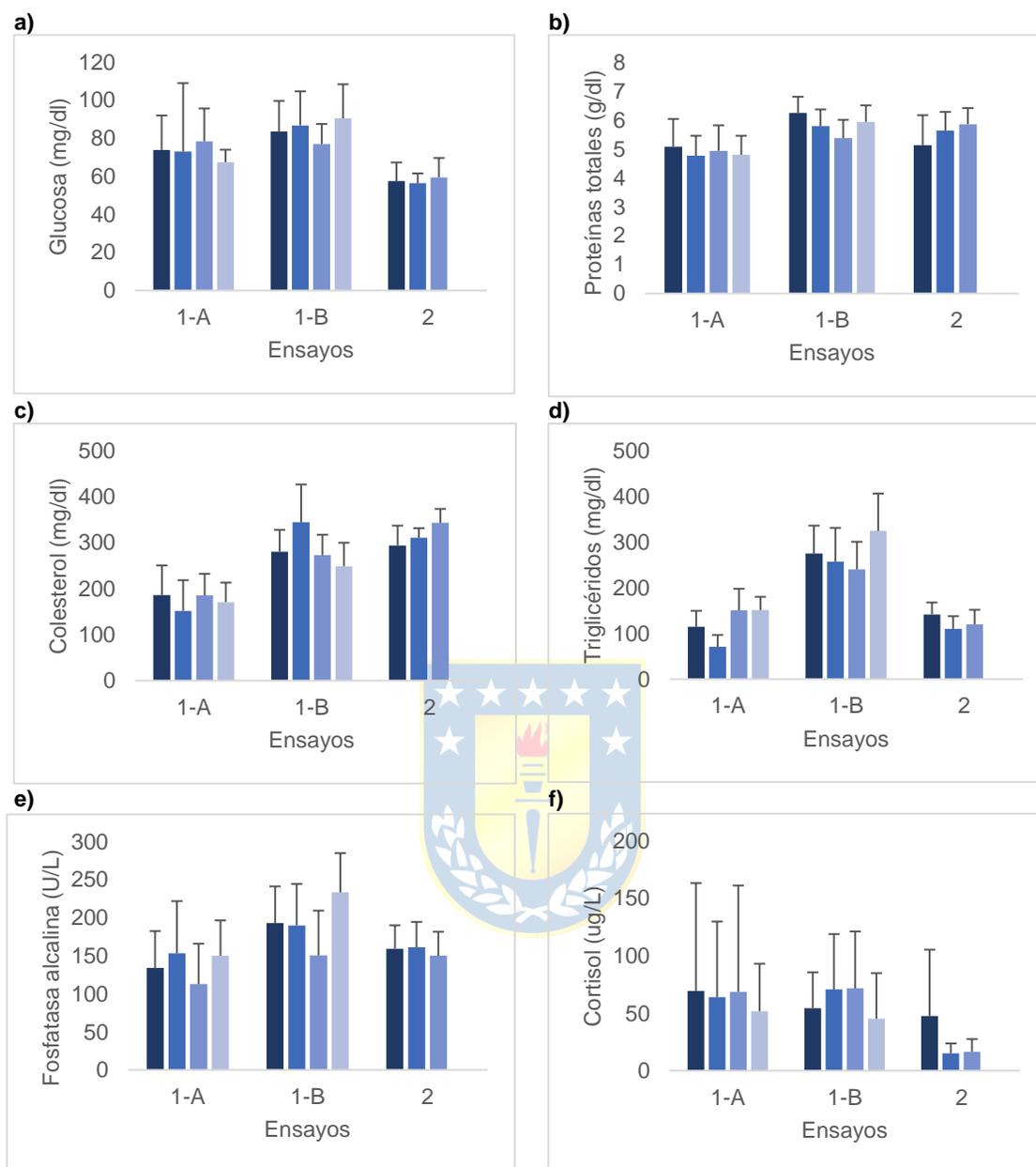


Figura 19. Fluctuación de la glucosa (a), proteínas totales (b), colesterol (c), triglicéridos (d), fosfatasa alcalina (e) y cortisol (f) en *S. salar* en los (1-A) ensayo 1-A, (1-B) ensayo 1-B y (2) ensayo 2. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar. (azul marino) grupo control con dieta D-0, (azul) grupo con dieta D-1, (azul grisáceo) grupo con dieta D-2 y (gris) grupo con dieta D-2 a ración (0,9 %).

6 DISCUSIÓN

6.1 Crecimiento

El crecimiento en términos de peso y longitud en los ensayos (1-A, 1-B y 2) exhibieron un incremento en el tiempo en todos los grupos, en específico los evaluados con probiótico BX-1 como aditivo en la dieta en comparación a los controles. Sin embargo, estas diferencias en los tratamientos no fueron significativas y solo permitieron establecer que los grupos poseen igual comportamiento en términos de peso y talla con tendencia a un mayor peso. Similares resultados obtuvieron Abid et al., (2013) en *S. salar* mediante el uso de bacterias como *Pediococcus* que mostro como resultados una tendencia al aumento en el peso que no fue significativo. Al contrario, Lashtoaghaei et al., (2020) y Hosseini et al., (2014) en la trucha común (*Salmo trutta caspius*) mencionaron diferencias entre los grupos al utilizar *Pediococcus* con un aumento en el peso en los tratamientos en comparación al control. Respecto a las levaduras como probiótico Tovar-Ramírez et al., (2004) menciona que el uso de *Debaryomyces hansenii* en larvas de lubina (*Dicentrarchus labrax*) aumentaba el peso de los ejemplares.

En los ensayos el crecimiento en peso y longitud no mostró diferencias con el uso del probiótico en los peces en posible consecuencia de factores como una deficiente extrusión del alimento que afecto al ensayo 1-A donde las dietas (D-0, D1 y D-2) de calibre 2 mm presentaron inconvenientes de fabricación provocando residuos de alimento y probiótico BX-1 en forma de polvillo (**Anexo 1**) lo que se traduciría en una pérdida importante de probiótico en las dietas que se vio reflejado en los resultados del ensayo. Otro factor importante a considerar en el ensayo 1-B es la baja ración de alimento utilizada, ya que en comparación al ensayo 2 este si mostro una tendencia al aumento del crecimiento en peso, como indica Mansano et al., (2017) y Pepe-Victoriano et al., (2012) el crecimiento puede ser influenciado por parámetros abióticos (temperatura, calidad del agua y fotoperiodo, entre otros) y bióticos (especie, sexo, frecuencia y la ración de alimentación, entre otros). Por último, el tiempo de experimentación pudo ser un factor limitante para la obtención de diferencias en el uso del probiótico, ya que en este estudio el tiempo de evaluación fue reducido en comparación a otros autores como Merrifield et

al., (2011) en 10 semanas y Lara-Flores et al., (2003) en 9 semanas que mostraron diferencias al usar probiótico en la alimentación de peces.

La tasa de crecimiento específico (SGR) corresponde al crecimiento expresado como el porcentaje de peso ganado por día. Mientras que el coeficiente térmico de crecimiento (TGC_3) es un índice de crecimiento que considera la temperatura y el peso de los peces, cuya limitante permite trabajar solo entre 5 a 14°C. Para estos índices se describen valores más altos en ejemplares pequeños, una disminución cuando crecen y mientras más alto sea el valor más rápido será el crecimiento del pez (Crampton & Sveidqvist, 2022).

En relación al SGR y TGC_3 en los ensayos se observaron diferencias que no fueron significativas en los grupos experimentales respecto al control. Los resultados en el ensayo 1-A mostraron una disminución en todos los grupos, para luego aumentar progresivamente en el tiempo donde el grupo con menor crecimiento fue aquel con el porcentaje más bajo de ración del alimento. Esta tendencia al aumento en la velocidad de crecimiento en los grupos indico que los peces crecieron en el tiempo, sin embargo, estos resultados no revelan un efecto del probiótico BX-1 en el crecimiento. En el ensayo 1-B se observó que disminuyen en todos los grupos siendo menor el control, esta tendencia indica que la velocidad de crecimiento en los grupos se reduce en el tiempo y que el probiótico no revela un efecto en el crecimiento. Por otro lado, en el ensayo 2 aumentaron en el tiempo en los grupos alimentados con el aditivo BX-1 a una dosis del 2% en comparación a la dosis del 1% y al control. Sin embargo, las velocidades de crecimiento en los grupos de peces alimentados con el probiótico tendieron a ser mayores que el control, lo que indica que podría mejorar el rendimiento del crecimiento en los peces. Similares resultados obtuvieron Lashtoaghaei et al., (2020) y Hosseini et al., (2014) en la trucha común (*S. trutta caspius*), Dawood et al., (2016) en el pargo japonés (*Pagrus major*) y Ahmadifar et al., (2020) en la carpa común (*Cyprinus carpio*) mencionaron que el uso de bacterias como *Pediococcus* mejora los parámetros de crecimiento en los peces. Respecto a estudios que han utilizado bacterias y levaduras como probiótico Lara-Flores et al., (2003) menciona que su uso exhibía mayor crecimiento en alevines de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

El crecimiento en términos del SGR y TGC₃ en los ensayos mediante el uso del probiótico en los peces pudo ser afectado por los factores anteriores mencionados como los problemas con el alimento en el ensayo 1-A, la baja ración de alimentación y el reducido periodo de experimentación para los ensayos.

6.2 Eficiencia de alimentación

El factor de conversión de alimento (FCR) corresponde a los kilogramos de alimento necesarios para producir un kilogramo de pescado. Existen dos formas de medir el aumento de la biomasa a través del factor de conversión de alimento económico (FCRe) mediante el aumento en el peso vivo de los peces y el factor de conversión de alimento biológico (FCRb) mediante el aumento en el peso vivo de los peces más el peso de los peces que murieron durante el periodo (Crampton & Sveidqvist, 2022).

En los FCR biológico y económico de los ensayos se observaron diferencias que no fueron significativas en los grupos experimentales respecto al control. En general para el ensayo 1-A y 1-B fueron menores a 1, lo que se interpretó que con menos de 1 kg de alimento se obtuvo 1 kg de incremento en peso, resultados que son improbables en posible consecuencia de que existió un problema con la toma de muestra en los ensayos. Además, los valores del FCR biológico en el ensayo 1-A fueron menores al FCR económico debido a la influencia de la mortalidad.

Según Torrissen et al., (2011) informan que los FCR promedio de *S. salar* tienen los siguientes valores: 1,103 en Noruega, 1,331 en el Reino Unido, 1,313 en Canadá y 1,493 en Chile. Lo cual señala que los valores para el ensayo 2 se encontraban entre los rangos obtenidos en el cultivo de salmones con FCR mayores a 1 en todos los grupos siendo menores para los grupos con probiótico. Los valores registrados en el ensayo 2 para los grupos con probiótico indican que con alrededor de 1,3 kg de alimento se obtuvo 1 kg de incremento en peso, siendo más eficientes en la conversión del alimento los tratamientos con el aditivo BX-1 respecto al control. Similares resultados obtuvieron Hosseini et al., (2014) en la trucha común (*S. trutta caspius*) y Dawood et al., (2016) en el pargo japonés (*P. major*), mencionaron que el uso de bacterias como *Pediococcus* exhibió menores valores en conversión alimenticia y una estimulación de la ingesta de

alimento. Respecto a estudios que han utilizado bacterias y levaduras como probiótico Lara-Flores et al., (2003) menciona que su uso mejoro la eficiencia alimenticia de los alevines de la tilapia del Nilo (*O. niloticus*).

En general estos resultados revelan que el uso del probiótico en la alimentación tiende a mejorar el FCR de los peces como se observó en el ensayo 2. Además, que sus valores se relacionan con los cambios en el crecimiento en los ensayos debido a que con un menor FCR la velocidad de crecimiento es mayor o viceversa.

6.3 Bienestar animal de los peces

El factor de condición (FC) es usado para relacionar el peso con longitud. Constituye una herramienta para corregir los protocolos de alimentación, utilizado como un indicador complementario del bienestar animal y para comparar cambios estacionales del estado nutricional, pero requiere ser complementado con otras herramientas de observación directa (Cifuentes et al., 2012). Puede indicar el estado nutritivo de los peces siendo útil en el cultivo para comparar y cuantificar la condición del pez asociando una valoración de la contextura de los ejemplares (Laibe, 2010). Donde un valor cercano a 1 indicaría peces óptimos, menor a 1 peces más delgados y mayor a 1 más robustos.

En los tres ensayos se obtuvieron resultados con diferencias que no fueron significativas y que perduraron sin mayores variaciones en el tiempo con un promedio entre un mínimo de 1,05 y un máximo de 1,29. Este rango de valores se considera como una buena condición y aquellos grupos con el factor más alto indicarían unos peces más robustos. Los ensayos 1-A y 1-B no mostraron diferencias entre grupos en comparación al ensayo 2, aquellos alimentados con el aditivo del probiótico BX-1 a dosis del 2% indicaron el mayor FC en comparación al control. En contraste a los estudios de Merrifield, et al., (2011) este se redujo significativamente en los grupos de peces alimentados con probióticos de *P. acidilactici* en la trucha arco iris (*O. mykiss*). Sin embargo, el FC no es un buen indicador de salud ya que solo considera la contextura del ejemplar y no los factores que pueden influir en la especie como la temperatura, cantidad y calidad de alimento y el estado reproductivo (Laibe, 2010).

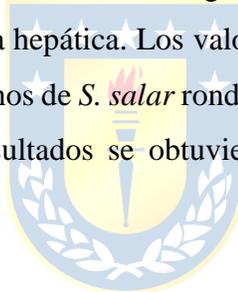
La mortalidad de los ejemplares en el ensayo 1-A podría estar asociada al probiótico BX-1, sin embargo esta fue clasificada como consecuencia de una muerte sin causa aparente. Situación distinta se obtuvo para los ensayos 1-B y 2 los que indicaron una mínima mortalidad, lo que podría significar que el uso de BX-1 no produjo efectos negativos en la salud de los peces. Se observó en mayor número solo en el ensayo 1-A en todos los grupos y en el ensayo 1-B solo un ejemplar la que influyo en los valores bajos del FCRb, mientras que en el ensayo 2 no presentó mortalidad. Similares resultados obtuvieron Abid, et al., 2013, en *S. salar* mediante el uso de bacterias como *Pediococcus* el que revelo una alta tasa de supervivencia en los tratamientos. Respecto a estudios que han usado levaduras como probiótico Tovar-Ramírez et al., (2004) señalo una mejora en la supervivencia de un 10% en larvas de lubina (*D. labrax*).

En los parámetros sanguíneos de los tres ensayos en general se observaron que los peces se encontraban en un buen estado de salud. La glucosa permaneció sin variaciones importantes en los ensayos en los grupos experimentales y controles, siendo similares en promedio a las concentraciones normales en la sangre de los peces descritos por Malini et al., (2018) con valores entre 40 a 90 mg/dl y por Cáceres (2018) para *S. salar* en un intervalo entre 17,7 - 125,3 mg/dl en promedio para ejemplares sanos.

Las proteínas totales no mostraron importantes variaciones en los ensayos. Aun así, se observaron diferencias en sus valores solo en el ensayo 1-B que exhibieron una disminución respecto al control. Estos resultados podrían ser en consecuencia a la condición de ayuno necesaria para realizar el muestreo en los ejemplares. La disminución de las proteínas totales en los peces se asocia a desnutrición, ayuno, disfunción hepática, infecciones producidas por patógenos, entre otras y sus niveles en promedio de proteínas totales descritos para la *S. salar* son entre 2,2-7,9 g/dl (Cáceres, 2018). Según Buenaño (2019) los intervalos normales de este parámetro en peces son entre 2,8 a 5,8 g/dl, similares concentraciones en promedio se obtuvieron en los resultados de todos los grupos.

En el colesterol se observaron diferencias en los ensayos 1-B y 2 que exhibieron un aumento en los grupos alimentados con probiótico BX-1 y una disminución en el grupo D-2 alimentado a la menor ración (0.9%) respecto al control. Se menciona que en agua salada para este ejemplar se obtienen valores medios en peces sanos entre 141,4-386,7 mg/dl (Cáceres, 2018). Similares concentraciones en promedio se obtuvieron en los resultados de todos los grupos, tendiendo a ser mayores en los grupos alimentados con el aditivo BX-1.

En los triglicéridos se observaron diferencias en los ensayos 1-A, 1-B y 2, exhibiendo un aumento durante el ensayo 1-B y una disminución en el ensayo 2 respecto al control. Estos resultados podrían ser en consecuencia a la condición de ayuno necesaria para realizar el muestreo en los ejemplares. Según Müller y Bittencourt (2021), en los peces se puede observar una disminución de los triglicéridos debido a ayuno prolongado, carencia nutricional e insuficiencia hepática. Los valores normales de triglicéridos según Cáceres (2018) para ejemplares sanos de *S. salar* rondan en un intervalo entre 71,9 - 503,3 mg/dl en promedio, similares resultados se obtuvieron en los ensayos en los grupos experimentales y controles.



En la fosfatasa alcalina se observaron diferencias solo en el ensayo 1-B que exhibió una disminución en los grupos alimentados con probiótico BX-1 y un aumento en el grupo D-2 alimentado a la menor ración (0.9%) respecto al control. Sin embargo, los resultados se encuentran dentro de los intervalos normales para ejemplares pre-smolt y smolt con valores menores a 264 U/L (Cáceres, 2018; Müller & Bittencourt, 2021).

El cortisol no mostro importantes variaciones en el promedio de los ensayos entre grupos. Sin embargo, en los ensayos 1-A y 1-B se observó que había ejemplares con valores muy altos que se encontraban fuera del rango normal para salmónidos descritos por otros autores, como en la trucha arco iris que se han reportado valores para peces sanos entre (10,12 a 15,56 ng/ml) y (22,66 y 33,26ng/ml) (Huanca & Carpio, 2017). Este aumento en el cortisol podría ser en consecuencia al manejo de los peces durante la toma de muestras o por factores como el ayuno. Según Fast et al., (2008) el estrés a corto plazo

da como resultado una elevación de los niveles de cortisol plasmático total por manejo agudo y repetido. También se ha informado que el cortisol varía con el tiempo y se ve influenciado por diversos factores como ayuno, ingesta de alimento, composición de la dieta, entre otros (Sadoul & Geffroy, 2019). En el ensayo 2 se observaron rangos similares a los mencionados por otros autores para peces sanos con una tendencia a la disminución en los grupos alimentados con el aditivo BX-1 respecto al control.

En general los parámetros obtenidos al inicio mostraron que los peces llegaron en buenas condiciones a pesar de las diferencias, se mantuvieron entre los rangos mencionados para peces sanos y revelaron que el aditivo de probiótico BX-1 al alimento no afectó el estado de salud. Resultados similares obtuvo Dawood et al., (2016) en el pargo japonés (*P. major*) mediante el uso de bacterias como *Pediococcus* que mejoraron las condiciones de salud en la especie.

Se recomienda mejorar este estudio realizado bajo condiciones similares con una mayor duración del ensayo y evitar la influencia de los factores mencionados para evaluar el efecto del probiótico BX-1 en los peces. Además de implementar nuevos estudios enfocados en las cepas probióticas para evaluar su efectividad en el crecimiento de salmónidos, profundizar en estudios sobre cómo impacta a la microbiota intestinal y el tiempo de residencia en los peces tanto en ambientes de agua dulces como salada. Por último sería interesante conocer cómo reacciona frente a patógenos que afectan en el cultivo de salmones.

7 CONCLUSIONES

El uso del probiótico BX-1 como aditivo en el alimento suministrado en los ensayos influyo de manera positiva para el crecimiento de los peces en este estudio, donde los tratamientos exhibieron una tendencia al aumento en peso y en velocidad de crecimiento, mostrando ser mayores en los grupos que contenían un porcentaje más alto en la ración de alimento y del porcentaje de probiótico.

Además, en la eficiencia de alimentación el uso del probiótico en los peces exhibió una tendencia a mejorar los factores de conversión del alimento mostrando ser menores en los grupos que contenían el aditivo del probiótico.

En relación al bienestar animal el uso del probiótico mostro una tendencia al aumento de los factores de condición con peces en buenas condiciones y más robustos, una disminución en la mortalidad y parámetros sanguíneos en el rango de peces sanos.

Por último, se rechaza la hipótesis planteada en relación al efecto del probiótico BX-1 sobre un mayor rendimiento del crecimiento debido a que no se obtuvieron diferencias significativas en los ensayos. Por otro lado, no se rechaza la sección en relación a los efectos negativos en la salud de los peces ya que como se observó permanecieron dentro del rango descrito para ejemplares sanos y disminuyo considerablemente la mortalidad durante los ensayos.

En resumen, el uso del probiótico BX-1 como aditivo en la dieta de *S. salar* podría mejorar el crecimiento, la eficiencia de alimentación y el estado de salud.

8 BIBLIOGRAFÍA

Ahmadifar, E., Sadegh, T. H., Dawood, M. A., Dadar, M., & Sheikhzadeh, N. (2020). The effects of dietary *Pediococcus pentosaceus* on growth performance, hemato-immunological parameters and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 516, 734656.

Amin, M., Adams, M., Bolch, C. J., & Burke, C. M. (2017). In vitro screening of lactic acid bacteria isolated from gastrointestinal tract of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) as probiont candidates. *Aquaculture International*, 25(1), 485-498.

Abid, A., Davies, S. J., Waines, P., Emery, M., Castex, M., Gioacchini, G., Carnevalid O., Bickerdike R., Romerof J. & Merrifield, D. L. (2013). Dietary synbiotic application modulates Atlantic salmon (*Salmo salar*) intestinal microbial communities and intestinal immunity. *Fish & shellfish immunology*, 35(6), 1948-1956.

Buenaño, M. V. (2019). Hemograma de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres etapas de producción en la cuenca alta de la provincia del Napo, Ecuador. *Boletín Técnico, Serie Zoológica*, 9(6).

Cáceres Cruz, G. P. (2018). Caracterización del perfil bioquímico del salmón del atlántico *salmo salar* sanos, y serovariación ante desafío con virus isa y *piscirickettsia salmonis*. Tesis para optar al Grado de Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias Mención Medicina Patología Animal. Universidad de Chile.

Cepero de García, M. C. (2012). *Biología de hongos*. Ediciones Uniandes-Universidad de los Andes. Recuperado el 20 de enero del 2022 en: www.books.google.es/books

Cifuentes, R., González, J., Montoya, G., Jara, A., Ortíz, N., Piedra, P., & Habit, E. (2012). Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuenca del río Valdivia, Chile). *Gayana (Concepción)*, 76, 86-100.

Crampton, V.O. & Sveidqvist, P. (2022). Manejo Practico del Alimento para jefes de centros de mar de salmon y trucha. EWOS Innovation. Recuperado el 01 de diciembre del 2022 en: www.academia.edu

Dawood, M. A. O., Koshio, S., Ishikawa, M., & Yokoyama, S. (2016). Effects of dietary inactivated *Pediococcus pentosaceus* on growth performance, feed utilization and blood characteristics of red sea bream, *Pagrus major* juvenile. *Aquaculture Nutrition*, 22(4), 923-932.

Ellis, T., Yildiz, H. Y., López-Olmeda, J., Spedicato, M. T., Tort, L., Øverli, Ø., & Martins, C. I. (2012). Cortisol and finfish welfare. *Fish physiology and biochemistry*, 38(1), 163-188.

Fast, M. D., Hosoya, S., Johnson, S. C., & Afonso, L. O. (2008). Cortisol response and immune-related effects of Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus) subjected to short-and long-term stress. *Fish & shellfish immunology*, 24(2), 194-204.

FAO (2022a). Acuicultura. Recuperado el 19 de febrero del 2022 en: www.fao.org/aquaculture/es/

FAO (2022b). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. Recuperado el 08 de agosto del 2022 en: <https://doi.org/10.4060/cc0461en>

FAO (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. Roma. Recuperado el 18 de febrero del 2022 en: www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229es

FAO (2009). *Salmo salar*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Jones, M. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual). Recuperado el 18 de febrero del 2022 en: www.fao.org/fishery/

FAO/WHO (2001). Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food, including powder milk with live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report.

França, R. C., Conceição, F. R., Mendonça, M., Haubert, L., Sabadin, G., de Oliveira, P. D., ... & Moreira, Â. N. (2015). *Pichia pastoris* X-33 has probiotic properties with remarkable antibacterial activity against *Salmonella Typhimurium*. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(19), 7953-7961. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6696-9>

Huanca Ramos, E. U., & Carpio Vázquez B. (2017). Niveles de cortisol y glucosa como indicadores de estrés en “truchas arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), utilizando anestésicos en la laguna de Arapa. Universidad Nacional del Altiplano <http://dx.doi.org/10.26788/riepg.2017.46>

Hong, S. I., Suh, Y. S., Kim, H. O., Bae, I. G., Shin, J. H., & Cho, O. H. (2018). Successful Treatment of Catheter Related Blood Stream Infection By *Milleromyces farinosa* with Micafungin: A Case Report. *Infection & chemotherapy*, 50(4), 362-366.

Hosseini, A., Orazi, H., Yegane, S., & Shahabi, H. (2014). The effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on growth performance, blood and some serum parameters in Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*).

Jaramillo-Torres, A., Rawling, M. D., Rodiles, A., Mikalsen, H. E., Johansen, L. H., Tinsley, J., ... & Merrifield, D. L. (2019). Influence of dietary supplementation of probiotic *Pediococcus acidilactici* MA18/5M during the transition from freshwater to seawater on intestinal health and microbiota of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Frontiers in microbiology*, 10, 2243.

Jiang, S., Cai, L., Lv, L., & Li, L. (2021). *Pediococcus pentosaceus*, a future additive or probiotic candidate. *Microbial cell factories*, 20 (1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01537-y>

Kandalski, P. K., Zaleski, T., Forgati, M., Baduy, F., Eugênio, D. S., Machado, C., ... & Donatti, L. (2019). Effect of long-term thermal challenge on the Antarctic notothenioid *Notothenia rossii*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(4), 1445-1461.

König, H., Fröhlich, J. (2017). Lactic Acid Bacteria. In: König, H., Uden, G., Fröhlich, J. (eds) *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5_1

Laibe J. (2010). Efecto de la temperatura y la calidad de la dieta en la retención de nutrientes del Salmón del atlántico *Salmo salar*. Tesis para Optar al Título de Ingeniero en Acuicultura. Universidad Austral de Chile.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzmán-Méndez, B. E., & López-Madrid, W. (2003). Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216(1-4), 193-201.

Lashtooghaei, G., Khara, H., & Sayyad, B. M. (2020). The effect of probiotic Bactocell (*Pediococcus acidilactici*) and iron on growth in Caspian Sea Salmon (*Salmo trutta caspius*).

Malini, D. M., Apriliandri, A. F., & Arista, S. (2018). Increased blood glucose level on pelagic fish as response to environmental disturbances at east coast Pangandaran, West Java. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 166, No. 1, p. 012011). IOP Publishing.

Mansano, C. F. M., Macente, B. I., Khan, K. U., do Nascimento, T. M. T., da Silva, E. P., Sakomura, N. K., & Fernandes, J. B. K. (2017). Morphometric growth characteristics and body composition of fish and amphibians. *New insights into morphometry studies*. London: InTech, 8-9.

Merrifield, D., Bradley, G., Harper, G., Baker, R., Munn, C. and Davies, S. (2011). Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 17: 73-79.

Mohamed, A. S., El Desoky, M. A., & Gad, N. S. (2019). The Changes in Triglyceride and Total Cholesterol Concentrations in the Liver and Muscle of Two Fish Species from Qarun Lake, Egypt. *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, 9(4), 86-90.

Müller, A., & Bittencourt, P., (2021). Manual de patología clínica de peces salmónidos. “Determinación de parámetros hematológicos, inmunológicos y mecanismos involucrados en las respuestas del hospedero a infecciones prevalentes y co-infecciones”. Recuperado el 15 de diciembre de 2021 en: www.pathovet.cl

Murakami, K., Adachi, K., Soejoedono, R. D., Handharyani, E., & Tsukamoto, Y. (2020). Effects of the Soil-Derived Microorganism BX-1 on Chicken Newcastle Disease. *Advances in Infectious Diseases*, 10(1), 1-10.

Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J.L. et al. (2012). Glucose metabolism in fish: a review. *J Comp Physiol B* 182, 1015–1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7>

Peyghan, R., Khadjeh, G. H., & Enayati, A. (2014). Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. In *Veterinary Research Forum: an International Quarterly Journal* (Vol. 5, No. 3, p. 225). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Passoth V, Blomqvist J, Schnürer J. (2007). *Dekkera bruxellensis* and *Lactobacillus vini* form a stable ethanol-producing consortium in a commercial alcohol production process. *Appl Environ Microbiol.* (13):4354-6. doi: 10.1128/AEM.00437-07

Parra Huertas, R. A. (2010). Review lactic acid bacteria: functional role in the foods. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105.

Pérez-Chabela, M. D. L., Alvarez-Cisneros, Y., Soriano-Santos, J., & Pérez-Hernández, M. A. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica*, 30(1), 93-105.

Pepe-Victoriano, R., Silva, A., Vega, A., Araya, M., & Cornejo, L. (2012). Effect of Increased Temperature, Frequency and Feed Ration on Growth of Juvenile Turbot *Psetta maxima*. *International journal of morphology*, 30(3), 902-907.

Qi, Y., Huang, L., Zeng, Y., Li, W., Zhou, D., Xie, J., ... & Yin, J. (2021). *Pediococcus pentosaceus*: Screening and Application as Probiotics in Food Processing. *Frontiers in Microbiology*, 12.

Sadoul, B., & Geffroy, B. (2019). Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology*, 94(4), 540-555.

Sáez, G., Chero, J., Cruces, C., Minaya, D., Rodríguez, C., Suyo, B., Romero, S., Guabloche A., Tuesta, E., Alvarino L., & Iannacone, J. (2018). Parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea en diez especies de peces marinos capturados por pesquería artesanal en la Bahía del Callao, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(4), 1161-1177.

Salmonexpert (2018). La nutrición de salmones se vuelve verde. Recuperado el 20 de agosto del 2022 en: www.salmonexpert.cl

Schifferdecker, A. J., Dashko, S., Ishchuk, O. P., & Piškur, J. (2014). The wine and beer yeast *Dekkera bruxellensis*. *Yeast*, 31(9), 323-332.

Steensels, J., Daenen, L., Malcorps, P., Derdelinckx, G., Verachtert, H., & Verstrepen, K. J. (2015). Brettanomyces yeasts—From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. *International journal of food microbiology*, 206, 24-38.

SUBPESCA (2022). Informe sectorial de pesca y acuicultura. Departamento de Análisis Sectorial. Junio 2022. Recuperado el 08 de agosto del 2022 en: www.subpesca.cl

Tovar-Ramírez, D., J. Zambonino, C. Cahu, F.J. Gatesoupe and R. Vázquez-Juárez. (2004). Influence of dietary live yeast on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. *Aquaculture*, vol: 234/1-4, pp 415- 427.

Torrissen, O., Olsen, R. E., Toresen, R., Hemre, G. I., Tacon, A. G., Asche, F., Hardy, R. W., & Lall, S. (2011). Atlantic salmon (*Salmo salar*): the “super-chicken” of the sea?. *Reviews in Fisheries Science*, 19(3), 257-278.

TSST (2022). TSST-Energy Technical business solutions. Tecnologías Probiótico animal BX-1. Recuperado el 20 de diciembre del 2022 en: www.tsst-energy.cl/technologies/15

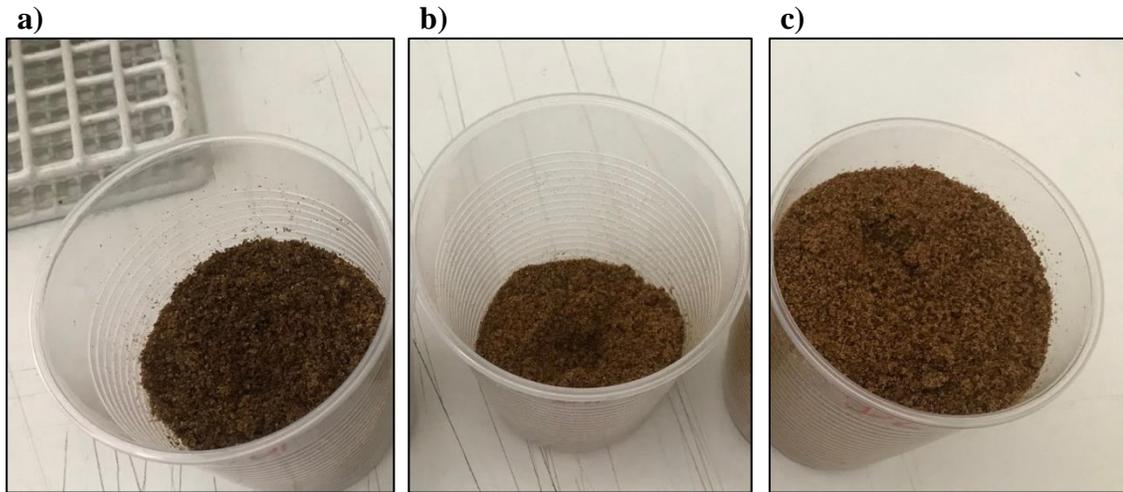
Vega, M. A. R. (2013). Valores Hematológicos y Bioquímica Sanguínea de la Población Silvestre del Huachinango *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) en el Pacífico Sur de México.

Wang, H., & Kim, I. H. (2019). Influence of the efficacy of a probiotic complex containing *Bacillus subtilis* and *Pichia farinosa* on the growth performance and fecal microbiota of finishing pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 99(4), 966-970.

Washington, I. M., & Van Hoosier, G. (2012). Clinical biochemistry and hematology. In *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents* (pp. 57-116). Academic Press.

Zoumpourtikoudi, V., Pyrgelis, N., Chatzigrigoriou, M., Tasakis, R. N., & Touraki, M. (2018). Interactions among yeast and probiotic bacteria enhance probiotic properties and metabolism offering augmented protection to *Artemia franciscana* against *Vibrio anguillarum*. *Microbial pathogenesis*, 125, 497-506.

9 ANEXOS



Anexo 1. Fotografías de los residuos desprendidos del pellet de calibre 2 mm. Residuos de las dieta (a) D-0, (b) D-1 y (c) D-2.

