

Efecto de *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodopseudomonas palustris* (microorganismos eficientes em) y melaza en la ganancia de peso de tilapias (*Oreochromis sp*) en condiciones de laboratorio

The effect of *lactobacillus casei*, *saccharomyces cerevisiae*, *rhodopseudomonas palustris* (beneficial and effective microorganisms - em) and molasses on tilapia (*oreochromis sp*) weight-gain in laboratory conditions

Guillermo Ladino-Orjuela¹ José A. Rodríguez-Pulido ²

¹ Grupo de investigación en alimentación y nutrición de organismos acuáticos GRANAC, Instituto de Acuicultura de los Llanos, ambos.ong@gmail.com

² Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal. Universidad de los Llanos. iioc@unillanos.edu.co

Recibido: Noviembre 24 de 2008. Aceptado: Febrero 17 de 2009

RESUMEN

La combinación de una bacteria ácido láctica, una bacteria fototrófica y una levadura también conocida como EM (effective microorganisms), se le reconoce capacidad sinérgica, sintrópica y metabiótica para disminuir de la capacidad contaminante de las aguas servidas. La MO de los estanques acuícolas la cual, normalmente se vierte, podría ser utilizada como sustrato para el crecimiento de los EM. Los microorganismos pueden servir de alimento a los peces y disminuir tanto los vertimientos a los cuerpos de agua como el consumo de alimento concentrado. Se evaluó el efecto de un cultivo comercial de EM en la ganancia de peso de alevinos de tilapia *Oreochromis sp*. Alevinos (n=10) con un peso promedio de 0,604 ± 0,059 g, fueron ubicados durante un periodo de 2 semanas en 10 contenedores plásticos de 25 litros, en condiciones de laboratorio. Se utilizaron cinco contenedores como control (T1), los cinco restantes (T2) recibieron dos mililitros diarios de un producto comercial compuesto por *Lactobacillus casei*; *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodopseudomonas palustris* cada uno con 10⁶ unidades formadoras de colonias suspendidas en una mezcla de melaza y agua. El alimento proporcionado consistió en un producto comercial con 40 % de proteína, la ración alimenticia fue igual al 6 % del peso inicial de los peces. El pH de los contenedores, se mantuvo estable en 6,7, la temperatura en 27 grados y el oxígeno en 7 ppm. No hubo recambio de agua y si aireación permanente. El agua de los contenedores del tratamiento, inicialmente tomó una coloración más oscura, sin embargo para el final del experimento, el agua de los dos tratamientos tenía la misma tonalidad. Los peces, presentaron lesiones oculares posiblemente por la marcada

agresividad mostrada durante la investigación. La ganancia de peso con T1 mostró una ganancia de peso de $0.7321 \text{ g} \pm 0.2126$ con un coeficiente de variación de 29.05. Para T2 se evidenció una ganancia de peso de $0.8034 \text{ gm} \pm 0.095$ con un coeficiente de variación de 11.87. No hubo diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Palabras clave: Cero recambio, Microorganismos eficientes, relación C:N, Tilapia.

ABSTRACT

The synergic, syntropic and metabiotic ability of a combination of lactic acid bacteria, phototrophic bacteria and yeast (also known as effective microorganisms – EM) to reduce residual water contamination is well recognised. Fish ponds' organic matter (which would normally be eliminated) could be used as substrate for EM culture. Microorganisms can serve as both fish-food and reduce effluents in water bodies and concentrated food consumption. The effect of a commercial EM culture was evaluated on tilapia (*Oreochromis sp*) fry weight-gain. Fry ($n=10$) having an average $0.604 \pm 0.059 \text{ g}$ weight were placed in ten 25 l plastic containers in laboratory conditions for 2 weeks. Five containers were used as control (T1); the other five (T2) were inoculated daily with 2 ml of a commercial product consisting of *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodopseudomonas palustris*, each having 10^6 colony forming units in water-molasses suspension. The feed provided was a commercial product having 40 % protein (feed ration was equal to 6 % of the fish' initial weight). Container pH was kept stable at 6.7, temperature at 27°C and oxygen at 7 ppm. There were no water exchanges; there was permanent aeration. Treatment tank water was initially dark; however, when the assay finished all the containers had the same colour. Fish had lesions to their eyes, possibly due to the marked aggressiveness exhibited during the investigation. T1 had $0.7321 \text{ g} \pm 0.2126$ weight-gain with 29.05 variation coefficient. T2 had $0.8034 \text{ g} \pm 0.095$ weight-gain, 11.87 variation coefficient. No statistical difference was found ($p < 0.05$).

Keywords: Zero exchange, Effective microorganisms, C:N ratio, Tilapia.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura en el mundo ha crecido en forma sostenida durante los últimos años producto del aumento en la demanda de los productos cárnicos acuícolas. Esta circunstancia ha presionado la intensificación de los sistemas de producción que han encontrado su mayor dificultad en la afectación de la calidad del agua causada por la acumulación de materia orgánica. Disminución de los niveles de oxígeno y producción de metabolitos tóxicos son situaciones que deben evitarse y para ello los productores disponen de diversas alternativas entre las que se tienen a) cultivos bacterianos heterotróficos también denominados biofloc (Avnimelech, 2006; Azim, 2008; Schneider, 2006b), b) sistemas de recirculación de agua (Neori, 1996; Seginer, 2008) y c) diferentes combinaciones de microorganismos denominados eficientes (EM) (Higa, 1994). El enfoque de cada una de estas

alternativas varía en su objetivo final, por un lado los nutrientes, por otro el recurso agua y finalmente la contaminación.

Los denominados bioflocs están constituidos por agregados de bacterias heterótrofas, fitoplancton, zooplancton y hongos entre otros microorganismos los cuales se desarrollan a partir de la materia orgánica disponible en el medio acuático. En términos generales, las bacterias heterótrofas son pioneras en la conformación del biofloc razón por la cual se ha enfatizado en su estudio a fin de lograr un mayor entendimiento del proceso de conformación y funcionamiento del mismo. Schneider (2006a) encontró que los efluentes resultantes de sistemas productivos acuícolas ricos en materia orgánica pueden ser utilizados como medio para la producción de bacterias heterotróficas

las cuales a su vez pueden ser consumidas por los peces como fuente de proteína. En igual sentido Avnimelech (1999), Crab (2007) y De Schryver (2008) reportan la posibilidad de utilizar las bacterias heterotróficas como recicladoras de los desechos de los peces (amonio, heces) al convertirlos en proteína microbiana útil como alimento que puede ser consumido por las tilapias gracias a sus hábitos alimenticios (Castillo, 2001). Se reporta una mayor ganancia de peso en tilapias alimentadas con una combinación de biofloc y alimento concentrado (Avnimelech, 2006; Azim, 2008). Sin embargo, el crecimiento bacteriano está asociado a la relación C:N existente en el medio la cual en condiciones óptimas debe encontrarse en un rango que varía de 15:1 - 20:1 (Asaduzzaman, 2008). Dentro de los sistemas de producción intensivos los peces excretan tal cantidad de nitrógeno que la relación C:N puede ser del orden de 3:1. En estas condiciones, la escasez de carbono orgánico asimilable impide la incorporación del nitrógeno circulante por parte de las bacterias (Avnimelech, 1999). Para alcanzar la relación requerida Burford (2003) reporta el uso de acetato de sodio como fuente de carbono orgánico sin embargo, los costos de este han hecho prohibitivo su uso; razón por la cual se está explorando actualmente el uso de otros productos como la melaza (subproducto del procesamiento de la caña durante la obtención del azúcar) (Hamlin, 2008; Schneider, 2007) o harina de yuca (Asaduzzaman, 2008) como sustitutos con resultados similares a un menor precio. Una vez obtenida la relación óptima, las bacterias a partir de sus procesos metabólicos son capaces de utilizar el nitrógeno inorgánico circulante reduciendo su cantidad en la columna de agua y en el sedimento de los cultivos. En los sistemas que emplean la tecnología del biofloc no se plantea el retiro de los metabolitos ni la materia orgánica acumulada sino su reciclaje.

MATERIALES Y METODOS

Diez 10 acuarios plásticos de 25 litros con 10 alevinos de tilapia (*Oreochromis sp*) cada uno con un peso promedio de $0,604 \pm 0,059$ g provenientes

Por otra parte, los sistemas de recirculación en acuicultura RAS (Recirculating aquaculture system), buscan disminuir el consumo operacional de agua y al tiempo evitar el vertimiento de desechos. Están diseñados de tal forma que el agua efluente de los estanques una vez se somete a un proceso de descarga o disminución de metabolitos y materia orgánica, es reutilizada como afluente de los mismos estanques logrando con ello disminuir sus requerimientos y una temperatura constante en el sistema (Seginer, 2008), no obstante, el cuello de botella de los sistemas de recirculación es mantener la calidad del agua (Menasveta, 2001; Rijn, 1996). La depuración del agua a menudo incluye el uso de microorganismos junto con barreras físicas capaces de capturar y procesar los productos indeseables con lo que se recupera el agua pero muchos nutrientes salen del sistema (Lackner, 2008; Singer, 2008).

Finalmente, la combinación de una bacteria ácido láctica, una bacteria fototrófica y una levadura también conocida como EM (effective microorganisms) se desarrolla en un medio con pH ácido de 4 o menor el cual es producto de la fermentación anaeróbica de los carbohidratos contenidos en la melaza, es promocionada por lo que han denominado su capacidad sinérgica, sintropica y metabiotica para ser empleada en muchos campos, multipropósito; uno de ellos es la disminución de la capacidad contaminante de las aguas servidas dada su capacidad para desdoblar la materia orgánica. Sin embargo, no se conocen reportes en acuicultura que permitan establecer su efectividad en el mejoramiento de la calidad del agua empleada en cultivo. Este estudio busca determinar, el posible efecto de la combinación de *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Rhodopseudomonas palustris EM* asociado con melaza, sobre la ganancia de peso de tilapias (*Oreochromis sp*).

de una granja piscícola comercial ubicada en el municipio de Cumaral - Meta. Durante el experimento se proporcionó aireación permanente

mediante bombas marca RESUN referencia AC 1500, con piedras difusoras a la salida del ducto de aire. No se practicó recambio de agua. Como inóculo se utilizó un producto comercial cuyo contenido de microorganismos corresponde a *Lactobacillus casei*; *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodopseudomonas palustris* con 10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro suspendidas en una mezcla de melaza y agua. El alimento proporcionado a los peces consistió en un producto comercial del 40 % de proteína. El agua utilizada en la experimentación provenía del acueducto municipal por lo que fue dejada en reposo durante 5 días antes de iniciar la fase experimental dando tiempo para que el contenido de cloro se evaporara. Luego de pesados se colocaron 10 alevinos de Tilapia en cada uno de los contenedores, la ración alimenticia fue igual al 6% del peso inicial de los

RESULTADOS

La ganancia de peso de los animales sometidos al tratamiento no tuvo diferencia significativa respecto de los animales control. Se pudo establecer que los contenedores del tratamiento desarrollaron sedimentos con apariencia viscosa en tanto que los contenedores control no. Tanto en el tratamiento como en el control, el pH del agua se mantuvo estable en 6.7, la temperatura fue estable en los 27 grados y el oxígeno estuvo en 7 ppm lo que significó la existencia de una buena tasa de oxigenación del agua de cultivo. Es necesario precisar que se requería disponer de una buena oxigenación para el desarrollo de peces.

Se pudo observar que el agua de los contenedores del tratamiento inicialmente tomó una coloración

DISCUSIÓN

Los resultados mostraron una ganancia de peso similar para los dos grupos, lo cual pudo obedecer a que los microorganismos no ejercieron su actividad en las condiciones del experimento. El agregado microbiano empleado se desarrolla bien en condiciones anaeróbicas a un pH menor de 4, condiciones de oxígeno y pH diferentes a las

peces cultivados distribuido en tres veces durante el día durante toda la investigación. La cantidad de alimento se proporcionó de acuerdo con la tabla de suministro elaborada por el fabricante de concentrado. Se hizo seguimiento permanente a los parámetros pH, temperatura y oxígeno disuelto con una sonda YSI 200. El pesaje antes y después del experimento se hizo en una balanza analítica Mettler Toledo AB 204-S con una sensibilidad de 0.0001 g.

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva y una prueba de t de student para establecer diferencias entre tratamientos con un nivel de confianza del 95 %, la información fue procesada mediante el programa GraphPad InStat.

más oscura probablemente debido a la presencia de la melaza en el cultivo microbiano, sin embargo para el final del experimento, el agua de los 2 tratamientos tenía la misma tonalidad. Los peces mostraron una marcada agresividad razón por la cual es posible la presentación de lesiones oculares en varios ejemplares.

La ganancia de peso T1 mostró una ganancia de peso de 0.7321 gm \pm 0.2126 con un coeficiente de variación de 29.0519. Para T2 se evidenció una ganancia de peso de 0.8034 gm \pm 0.095 con un coeficiente de variación de 11.87. El análisis estadístico muestra que no hubo diferencia significativa entre los dos tratamientos.

requeridas por las tilapias. Aunque los microorganismos han sido promocionados por el efecto multipropósito, el movimiento del agua y la aireación permanente pudieron afectar su desarrollo. La presencia de sedimento viscoso en T2 evidencia un efecto del inóculo, posiblemente por una mayor actividad microbiana dada la presencia de los

carbohidratos de la melaza, lamentablemente el estudio no incluyó la evaluación del sedimento conformado por lo que no se pudo establecer, si las microorganismos inoculados se desarrollaron en el mismo. La relación C:N no fue determinada pero, es posible decir que fue superior en T2 comparada con T1 puesto que, solo T2 recibió melaza como aporte de carbohidratos. En este orden de ideas, puede pensarse que las condiciones desarrolladas en la investigación son adecuadas para un cultivo heterótrofo el cual requiere oxigenación y movimiento permanente con un pH superior a 6.0 pero no para el cultivo de microorganismos empleado.

Por otra parte, el tiempo empleado para la evaluación del efecto del cultivo bacteriano posiblemente sea muy estrecho para evidenciar diferencias significativas en la ganancia de peso de tilapias con

un peso promedio inicial de $0,604 \pm 0,059$ g agregándoles 2 ml de la mezcla microbiana compuesto por *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodospseudomona palustris* con 10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro suspendidas en la mezcla de melaza y agua.

Los resultados obtenidos del presente estudio, plantean nuevos ensayos relacionados con un mayor tiempo de duración incluyendo como elemento de análisis la mortalidad, parámetros de calidad del agua como amonio, evaluación del total de sólidos suspendidos volátiles, crecimiento bacteriano y caracterización del sedimento. Igualmente, la inclusión de una nueva unidad de paso del agua experimental en condiciones anaeróbicas inoculada con el cultivo de microorganismos.

AGRADECIMIENTOS

A los funcionarios y contratistas del laboratorio de nutrición en organismos acuáticos GRANAC del Instituto de Acuicultura de los Llanos de la

Universidad de los Llanos por los aportes a este documento y al profesor Gustavo Lenis por su colaboración.

REFERENCIAS

Asaduzzaman M, Wahab MA, Verdegem MCJ, Huque S, Salam MA, Azim ME, C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. *Aquaculture* 2008;280: 117-123.

Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 1999;176:227-235.

Avnimelech Y.. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering* 2006; 34:172-178.

Azim ME, Little DC. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 2008;283: 29-35.

Burford MA, Thompson PJ, McIntosh RB, Bauman RH, Pearson DC. Nutrient and microbial dynamics in high-

intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 2003; 219: 393-411.

Castillo LF, 2001. Tilapia Roja 2001. Una evolución de 20 años, de la incertidumbre al éxito., pp. 1-69.

Crab RA, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 2007; 270: 1-14.

De schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 2008; 277: 125-137.

Hamlin HJ, Michaels JT, Beaulaton CM, Graham WF, Dutt W, Steinbach P, Losordo TM, Schrader KK, Main KL. Comparing denitrification rates and carbon sources in commercial scale upflow denitrification biological filters in aquaculture. *Aquacultural engineering* 2008; 38, 79-92.

- Higa T, Parr J. 1994. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. International Nature Farming Research Center, Atami, Japan, 16 pp.
- Lackner S, Terada A, Smets B. Heterotrophic activity compromises autotrophic nitrogen removal in membrane-aerated biofilms: Results of a modeling study. *Water Research* 2008;42: 1102-1112.
- Menasveta P, Panritdam T, Sihanonth P, Powtongsook S, Chuntapa B, Lee P. Design and function of a closed, recirculating seawater system with denitrification for the culture of black tiger shrimp broodstock. *Aquacultural engineering* 2001; 25: 35-49.
- Neori A, Krom M, Ellner S, Boyd CE, Popper D, Rabinovitch R, Davison P, Dvir Orit, Zuber D, Ucko M, Angel D, Gordin H. Seaweed biofilters as regulators of water quality in integrated fish-seaweed culture units. *Aquaculture* 1996;141: 183-199.
- Rijn JV. The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture - A review. 1996; 139: 181-201.
- Schneider O, Chabrillon-Popelka M, Smidt H, Haenen O, Sereti V, Eding Ep-H, Verreth JAJ. HRT and nutrients affect bacterial communities grown on recirculation aquaculture system effluents. *Federation of European Microbiological Societies*. 2007; 60: 207-219.
- Schneider O, Sereti V, Eding Ep-H, Verreth JAJ. Molasses as C source for heterotrophic bacteria production on solid fish waste. *Aquaculture* 2006a;261: 1239-1248.
- Schneider O, Sereti V, Machiels M, Eding Ep-H, Verreth JAJ. The potential of producing heterotrophic bacteria biomass on aquaculture waste. *Water research* 2006b; 40 (2006), 2684– 2694.
- Seginer I, Mozes N, Lahav O. A design study on the optimal water refreshment rate in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural engineering* 2008;38: 171-180.
- Singer A, Parnes S, Gross A, Sagi A, Brenner A. A novel approach to denitrification processes in a zero-discharge recirculating system for small-scale urban aquaculture. *Aquacultural engineering* 2008;39: 72-77.