

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología – Microbiología

**Eficiencia del fermento probiótico en acuicultura simbiótica  
aplicada al cultivo de rotíferos *Brachionus plicatilis***

**TESIS**

Presentada por:

**Bach. Noelia Lizeth Gonzales Vizcarra**

Para optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO**

TACNA – PERÚ

2026



ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS Nro. 461

En la ciudad de Tacna, en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; siendo las 11:30 horas del día Lunes 22 de diciembre del 2025, estando presente el jurado calificador nominado con Resolución de Facultad Nro. 11578

- 2025 FACI-UNJBG, conformado por los siguientes docentes:

Dra. Soledad Amparo Bornás Acosta (Presidente)  
Dr. Carlos Francisco Tito Vargas (Secretario)  
Msc. Victor Hugo Carbajal Zegarra (Vocal)

Acto seguido, se dio lectura a la Resolución correspondiente, y del mismo modo se informa a la (al) Bachiller que el acto de sustentación constará de dos partes: (I) exposición y sustentación de la tesis, (II) absolución de preguntas del jurado. Todo ello en un tiempo no mayor a 60 minutos ni menor a 30 minutos. A continuación, el presidente del Jurado instó a la (al) Bachiller:

Noelia Lizeth Gonzales Vizcarra

a exponer la Tesis titulada:

Eficiencia del fermento probiótico en avicultura  
simbiótica aplicada al cultivo de rotíferos  
Brachionus plicatilis

para optar el Título Profesional de \_\_\_\_\_

Siendo las 12:20 horas, la (el) tesista concluye su exposición, luego se procedió a la formulación de las preguntas por parte de los miembros del jurado calificador, terminado este proceso, se invitó al público presente a abandonar la sala de sustentación para que los miembros del jurado emitan su calificación de acuerdo a reglamento. El promedio de la calificación dio el siguiente resultado: aprobado por unanimidad, con nota de diecisiete (17) de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna.

Siendo las 13:10 horas, se dio por concluido el acto de sustentación de la tesis, firmando los miembros del jurado calificador, en señal de conformidad.

Soledad Amparo Bornás Acosta  
Presidente

Carlos Francisco Tito Vargas  
Secretario

Victor Hugo Carbajal Zegarra  
Vocal

## CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Mgtr. Víctor Hugo Carbajal Zegarra**, en mi condición de **asesor acreditado**, certifico que la tesis titulada "**Eficiencia del fermento probiótico en acuicultura simbiótica aplicada al cultivo de rotíferos *Brachionus plicatilis***", elaborada por la Bach. **Noelia Lizeth Gonzales Vizcarra**, para optar al **Título Profesional de Biólogo Microbiólogo**, ha sido sometida al análisis de originalidad correspondiente.

De acuerdo con el análisis de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual establecido por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG), mediante el software de detección de similitud TURNITIN, con fecha 12 de marzo de 2026, se obtuvo el siguiente resultado:

**Código de identificación del reporte (OID): 23228:566980135**

**Porcentaje de similitud: 4 %**

**Nivel de similitud: Permitido**

En virtud de lo expuesto, **CERTIFICO QUE EL NIVEL DE SIMILITUD DE LA TESIS SE ENCUENTRA DENTRO DE LOS PARÁMETROS PERMITIDOS**, por lo que la tesista puede continuar con el proceso correspondiente para la obtención de su título profesional.

Se expide el presente certificado para los fines que correspondan.

Tacna, 13 de marzo de 2026



FIRMA ASESOR



Mgtr. Víctor Hugo Carbajal Zegarra

DNI: 04745280



FIRMA AUTOR



Bach. Noelia Lizeth Gonzales Vizcarra

DNI: 74687785

## DEDICATORIA

*Adonai, guía y fortaleza.*

*A mi progenitora, pilar de mi vida.*

*A mi hermana, mi cómplice.*

*A mis princesas, Antonella y Ana.*

*A Sidgar, mi padre del corazón.*

*A Jorge, mi compañero de mis vidas.*

*A mis maestras, Leonor, Lady y Odalis, por su ejemplo.*

***Este logro no es solo mío, es de ustedes.***

## AGRADECIMIENTOS

Expreso mi gratitud a FONDEPES, sin su apoyo no habría sido posible el desarrollo de mi tesis, en particular del Centro de Acuicultura Morro Sama.

A mi asesor, el Mgtr. Víctor Hugo Carbajal Zegarra, le agradezco de todo corazón por su apoyo constante, sus valiosos consejos y su disposición para resolver cada duda que surgió en el camino.

A mi co-asesora, la Ing. Odalis Maribel Morales Olin, le expreso mi más profundo agradecimiento por confiar en mí desde el primer momento. Su experiencia y compromiso fueron pilares fundamentales para el éxito de este trabajo.

Al Ing. Víctor Chili Layme, le extiendo mi gratitud por brindarme la oportunidad de realizar mi tesis en el centro y por confiar en mi capacidad para llevar adelante este proyecto.

Al equipo del Centro de acuicultura Morro Sama: al Ing. Fredy Ticona, Blg. Leo Machaca, Ing. Rosmery Fernández, Carlos Reinoso, Yesid Chata C. y Eloy Paredes; su compañía, colaboración y amistad hicieron que este camino fuera más llevadero y memorable.

A mis amigas: Paola Franco, Daysi Guerra, Claudia Araujo, Karla Jara y Lourdes Ucedo, por su amistad y convertir mi paso por la universidad en una etapa inolvidable.

A la Mtra. Mary Ruth Quiroz Gómez, al Abog. Mario William Quiroz Gomez, a la Sra. Aurora Quiroz de Urriola, Mtra. Aurora Edith Urriola Quiroz, Sr. Luis Urriola Palza y familia, por el cariño con el que me han acogido como parte de su hogar.

A mi familia materna, por ser el corazón que me sostiene: por sus palabras, su cariño y su fe en mí.

A mis guías espirituales: mis tíos, Ing. Nicolás Vizcarra Gutiérrez, Srta. Clara Aratea y Sr. Neptalí Gonzales; a mi padre, Sr. Nelso Gonzales Monteza; y a mis abuelos, Sra. Margarita Gutiérrez Vda. de Vizcarra y Sr. Dámaso Vizcarra. Por ellos tengo prohibido rendirme; se fueron creyendo en mí.

¡Gracias!

## CONTENIDO

DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTOS .....	v
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT .....	xii
INTRODUCCIÓN .....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	4
1.1. Identificación del problema.....	4
1.2. Formulación del problema.....	5
1.3. Justificación e importancia.....	5
1.4. Impacto en la acuicultura.....	6
1.5. Hipótesis.....	6
1.6. Objetivos.....	7
1.6.1. Objetivo general .....	7
1.6.2. Objetivos específicos.....	7
1.7. Variables.....	8
1.7.1. Variables independientes.....	8
1.7.2. Variables dependientes.....	8
MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES.....	9
2.1. Marco teórico.....	9
2.1.1. FONDEPES.....	9
2.1.2. Centro de acuicultura morro sama.....	9
2.1.3. Acuicultura simbiótica .....	10
2.1.4. Acuicultura marina .....	10
2.1.5. Acuicultura marina en el Perú .....	11
2.1.6. Acuicultura marina en Tacna.....	12

2.1.7. Alimento vivo de peces marinos .....	12
2.1.8. Rotíferos ( <i>Brachionus plicatilis</i> ) .....	13
2.2. Antecedentes.....	17
2.2.1. Antecedentes internacionales .....	17
2.2.2. Antecedentes nacionales.....	28
2.2.3. Antecedentes regionales .....	32
METODOLOGÍA.....	35
3.1. Aseguramiento de calidad preexperimental .....	35
3.1.1. Higienización del material de laboratorio .....	35
3.1.2. Metodología de la higienización del material de laboratorio .....	36
3.1.3. Calibración de equipos .....	40
3.2. Preparación y diseño experimental.....	41
3.2.1. Donación y preparación del material biológico.....	41
3.2.2. Definir tratamientos y réplicas .....	42
3.3. Ensayos.....	44
3.3.1. Probiótico comercial Microhatch .....	44
3.3.2. Metodología de dosis del probiótico comercial Microhatch .....	46
3.3.3. Evaluación y dosificación de la harina proteica vegetal.....	48
3.3.1. Elaboración del fermento probiótico .....	54
RESULTADOS.....	59
4.1. Evaluación del probiótico comercial Microhatch.....	60
4.2. Evaluación de la harina proteica vegetal .....	68
4.3. Evaluación de la eficiencia del fermento probiótico .....	74
CONCLUSIONES .....	83
5.1. Preparación del material biológico y establecimiento de los grupos experimentales:.....	83
5.2. Selección de adyuvantes del fermento probiótico: .....	83
5.3. Determinación de la dosificación del probiótico MICROHATCH: .....	84

5.4. Establecimiento de la dosis óptima del fermento probiótico:.....	84
5.5. Evaluación de las condiciones fisicoquímicas del sistema acuático: .....	85
5.6. Análisis de la eficiencia del fermento probiótico: .....	86
RECOMENDACIONES .....	88
6.1. Probiótico comercial Microhatch .....	88
6.2. Harina proteica vegetal.....	89
6.3. Fermento probiótico .....	89
REFERENCIAS.....	90
ANEXOS .....	94

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Composición de la mezcla del fermento probiótico (200 mL) para cultivo de <i>Brachionus plicatilis</i> .....	57
<b>Tabla 2</b> Explicación de los beneficios de cada ingrediente.....	58
<b>Tabla 3</b> Leyenda de abreviaturas y símbolos utilizados en las tablas y figuras .....	59
<b>Tabla 4</b> Promedios y ranking por dosis del probiótico comercial Microhatch .....	60
<b>Tabla 5</b> Medias por dosis del probiótico comercial Microhatch.....	61
<b>Tabla 6</b> Mejor dosis por día (criterio: Nt/mL) del probiótico comercial Microhatch .....	61
<b>Tabla 7</b> Índice compuesto ponderado por dosis del probiótico comercial Microhatch.....	62
<b>Tabla 8</b> Dosis más efectiva por biomasa (Nt/mL) del probiótico comercial Microhatch .....	62
<b>Tabla 9</b> Dosis más efectiva por hembras ovígeras con el probiótico comercial Microhatch	63
<b>Tabla 10</b> Resumen de la producción (Nt/mL) en función de la dosis del probiótico <del>Microhatch</del> .....	63
<b>Tabla 11</b> Resumen de ovígeras (NFh/mL) por dosis del probiótico comercial Microhatch .	64
<b>Tabla 12</b> Evaluación de calidad del agua en el cultivo de rotíferos.....	64
<b>Tabla 13</b> Promedios y ranking por dosis de la harina proteica vegetal.....	68
<b>Tabla 14</b> Resumen de producción (Nt/mL) en función de la dosis de harina proteica vegetal .....	69
<b>Tabla 15</b> Resumen de la concentración de hembras ovígeras (NFh/mL) en función de la dosis de harina proteica vegetal .....	70
<b>Tabla 16</b> Promedios y ranking por dosis del fermento probiótico .....	74
<b>Tabla 17</b> Tabla completa del resumen de producción (Nt/mL) según dosis del fermento probiótico.....	75
<b>Tabla 18</b> Resumen por dosis hembras ovígeras por mililitro del fermento probiótico .....	75
<b>Tabla 19</b> Promedios por dosis del fermento probiótico .....	76
<b>Tabla 20</b> Calidad del agua en el cultivo de rotíferos con fermento probiótico .....	76
<b>Tabla 21</b> Monitorización del pH del fermento probiótico.....	77

## RESUMEN

La producción de rotíferos marinos constituye un factor de éxito para la fase larvaria en peces marinos. En este marco, y bajo un enfoque de acuicultura simbiótica, se desarrolló un estudio experimental orientado a evaluar la eficiencia de un fermento probiótico en cultivos de *Brachionus plicatilis*. El fermento se elaboró con insumos seleccionados por su capacidad para generar compuestos bioactivos capaces de regular el pH, estabilizar la microbiota y aumentar la disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo. Se implementó un diseño experimental que incluyó pre-ensayos, con el fin de ajustar la dosis del probiótico comercial MICROHATCH y de los coadyuvantes. Se monitorearon parámetros fisicoquímicos ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  y pH) y biológicos (densidad poblacional y fecundidad), considerando que la eficiencia del fermento se refleja y cuantifica mediante el incremento de la densidad poblacional de *B. plicatilis*. Durante el periodo de evaluación se observó un aumento de biomasa y una mayor estabilidad del medio de cultivo. En conjunto, estos resultados evidencian un entorno más estable y nutritivo, que se presenta como una alternativa biotecnológica viable para fortalecer la fase inicial de producción de rotíferos marinos.

**Palabras claves:** rotíferos, fermento probiótico, biomasa y calidad de agua

## ABSTRACT

Marine rotifer production is a key success factor for the larval stage in marine fish. Within this framework, and under a symbiotic aquaculture approach, an experimental study was conducted to evaluate the efficiency of a probiotic ferment in cultures of *Brachionus plicatilis*. The ferment was prepared using inputs selected for their ability to generate bioactive compounds capable of regulating pH, stabilizing the microbiota, and increasing nutrient availability in the culture medium. An experimental design was implemented that included pre-trials in order to adjust the dose of the commercial probiotic MICROHATCH and the auxiliary additives. Physicochemical parameters ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , and pH) and biological parameters (population density and fecundity) were monitored, considering that the ferment's efficiency is reflected and quantified by the increase in the population density of *B. plicatilis*. During the evaluation period, an increase in biomass and greater stability of the culture medium were observed. Overall, these results indicate a more stable and nutrient-rich environment, which appears as a viable biotechnological alternative to strengthen the initial phase of marine rotifer production.

**Keywords:** rotifers; probiotic ferment; biomass; water quality

## INTRODUCCIÓN

La actividad acuícola se ha consolidado, como una práctica económica importante, en respuesta al crecimiento demográfico y la generación de un producto proteico de calidad. En este contexto, la técnica del cultivo acuícola se posiciona como una vía sostenible para garantizar la disponibilidad alimentaria con menor alteración ecológica, ofrece ventajas competitivas frente a otras industrias dedicadas a la producción de proteína.

La labor del Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero, a través de los centros acuícolas, tienen como finalidad impulsar la acuicultura en el Perú, mediante la producción de kits tecnológicos que se entregan para el inicio o mejora de actividades acuícolas en pequeña escala, cuya misión es transferir tecnología práctica y adecuada a un entorno beneficiario, equiparando oportunidades de acceso a insumos y equipos para acuicultores de bajos recursos, fomentando la autosuficiencia y democratizar el acceso a la actividad acuícola.

El Centro Acuícola de Morro Sama (CAMS) opera bajo procesos productivos de colaboración secuencial entre sus laboratorios, formando una cadena articulada de procesos. En este modelo cada etapa depende críticamente de la anterior, asimismo cada área debe ser considerada crucial para la obtención de especies saludables, y de

excelente calidad proteica; la línea de producción inicia en el laboratorio de alimento vivo, produciendo la cantidad y calidad necesaria para alimentar a las larvas en su etapa post natal, garantizando la supervivencia hasta su proceso de alevinaje.

En este contexto, el uso de alimento vivo, como los rotíferos del género *Brachionus* es importante en la nutrición de la larvicultura de peces marinos debido a su tamaño, motilidad y metabolización, obteniendo resultados favorables en la larvicultura, en la fase de inicio de larvicultura los primeros 15 a 30 días de alimentación exógena, la oferta de alimento se concentra en pocas presas vivas, especialmente rotíferos y nauplios de *Artemia salina* (Støttrup & McEvoy, 2003). No obstante, estos organismos carecen de ciertos ácidos grasos esenciales, necesarios para el desarrollo de las larvas marinas, por lo que requieren procesos de enriquecimiento antes de ser suministrados como alimento (Hasan & Banerjee, 2020).

En especies de agua dulce, como Pacú negro (*Colossoma macropomum*), pueden sintetizar algunos ácidos grasos esenciales a partir de precursores de su dieta, lo que reduce los procesos de enriquecimiento en el alimento vivo (Gómez Rios, 2023).

La implementación de fermento probiótico en un sistema de acuicultura simbiótica representa una estrategia para mejorar la calidad del agua del cultivo, además proporcionar un suplemento nutricional al cultivo de rotíferos, promoviendo así la salud larvaria. Los fermentos pueden enriquecer el perfil nutricional de los

rotíferos, al mismo tiempo, contribuir a la estabilidad microbiológica del sistema de cultivo (López et al., 2022).

La finalidad del trabajo de investigación es diseñar y analizar la eficiencia de un fermento probiótico incorporado en un sistema de acuicultura simbiótica aplicado al cultivo de *Brachionus plicatilis*. La eficiencia se evalúa mediante indicadores biológicos como el incremento de la densidad poblacional, el aumento de la tasa de reproducción, la disminución de la mortalidad y la mayor estabilidad del cultivo a lo largo del tiempo. Para la formulación del fermento probiótico como producto fue necesario evaluar de manera independiente cada insumo, con el propósito de establecer la dosis óptima, lo que requirió la ejecución de múltiples pre-ensayos y ensayos experimentales.

Se espera que los resultados obtenidos aporten conocimientos para optimizar las prácticas en la producción de rotíferos, contribuyendo de manera indirecta al desarrollo sostenible de la actividad acuícola.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Identificación del problema

El cultivo de *Brachionus plicatilis* en el CAMS, presenta desafíos relacionados con la acumulación de desechos orgánicos en cultivos de escalamiento, lo que genera un deterioro progresivo en la calidad de agua que promueve la proliferación de protozoarios, en su mayoría del género *Euplotes*, que compiten por los mismos recursos. Por consiguiente, se registra un descenso de la reproducción, densidad poblacional y sostenibilidad del cultivo. La manipulación física de los organismos, consistente exclusivamente en lavados realizados en el laboratorio de alimento vivo con el objetivo de eliminar los protozoarios, conllevando riesgos de estrés mecánico y mortalidad.

En este contexto, el fermento probiótico surge como una solución biotecnológica. Su aplicación, puede mejorar la calidad del agua, además de aportar compuestos bioactivos y nutrientes al medio de cultivo. Esta formulación potencia el crecimiento, la fertilidad y el rendimiento poblacional de los rotíferos, minimizando la necesidad de intervenciones manuales y favoreciendo un sistema acuícola sostenible. Es importante resaltar que en la elaboración del producto no tendrá como objetivo ser un “**PROTOZOESTATICIDA**”, relacionado con un producto exclusivo para matar e inhibir el crecimiento de protozoarios.

## 1.2. Formulación del problema

Respecto a lo explicado se plantea:

- ¿Cómo influye la eficiencia del fermento probiótico en el cultivo de rotíferos *Brachionus plicatilis* sobre la calidad del agua y la productividad en sistemas acuícolas sostenibles?

## 1.3. Justificación e importancia

La labor acuícola se ha convertido en una solución por la creciente demanda de alimento proteico marino, donde los recursos pesqueros naturales se encuentran cada vez más limitados (Boyd, 1990). La producción de alimento vivo durante la etapa larvaria de peces marinos es importante para garantizar su supervivencia, el organismo más usado para alimentar a las larvas es el *Brachionus plicatilis* (Hasan & Banerjee, 2020).

No obstante, la calidad del agua es un factor determinante y desafiante, favoreciendo la proliferación de microorganismos patógenos como protozoarios del género *Uronema* y *Euplotes*, que compiten por nutrientes (López Lucero et al., 2022). La capacidad del fermento probiótico es estabilizar y asegurar la sustentabilidad del cultivo (Boyd, 1990; Hasan & Banerjee, 2020).

Desde el punto de vista tecnológico, el uso de fermentos probióticos reduce la necesidad de intervenciones manuales, reduciendo la mortalidad, optimizando la

biodegradación de desechos, disminuyendo el gasto de agua, lo que se alinea con los principios de economía circular y producción limpia (Torres Valencia et al., 2018). Finalmente, la mejora en la producción de alimento vivo repercute positivamente en las comunidades acuícolas locales, fortaleciendo la economía regional, generando empleo y aportando a la seguridad alimentaria.

#### **1.4. Impacto en la acuicultura**

Los rotíferos son pilares críticos en la cadena alimentaria de especies marinas de cultivo acuícola de alto valor comercial. Al mejorar la eficiencia de los cultivos, contribuirá a garantizar un aporte sostenido de alimento vivo para la alimentación larvaria, lo que se traduce en tasa de sobrevivencia y crecimiento óptimo.

#### **1.5. Hipótesis**

La incorporación de un fermento probiótico elaborado a partir del probiótico comercial MICROHATCH en los cultivos de *Brachionus plicatilis* producirá una mejora significativa en la calidad del agua, lo que se evidenciará en crecimiento poblacional y aumento de la tasa de reproducción de los rotíferos, en contraste con los cultivos que no reciben la adición de dicho fermento.

## **1.6. Objetivos**

### **1.6.1. Objetivo general**

Evaluar la eficiencia del fermento probiótico en la acuicultura simbiótica aplicada al cultivo de rotíferos (*Brachionus plicatilis*), mediante el análisis de su impacto en la calidad del agua y crecimiento poblacional.

### **1.6.2. Objetivos específicos**

- Preparar el material biológico y establecer los grupos experimentales.
- Identificar y seleccionar los adyuvantes del fermento que acompañara al probiótico comercial.
- Determinar la dosificación del probiótico comercial MICROHATCH en cultivos de rotíferos (*Brachionus plicatilis*).
- Establecer la dosis óptima del fermento probiótico en sistemas de cultivo de rotíferos.
- Evaluar las condiciones fisicoquímicas del sistema acuático con y sin la aplicación del fermento probiótico, para evaluar su contribución a la eficiencia del cultivo.
- Analizar la eficiencia del fermento probiótico en cultivos de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) en presencia del fermento probiótico, estableciendo sus beneficios para el sistema de cultivo.

## **1.7. Variables**

### **1.7.1. Variables independientes**

#### **1.7.1.1. Concentración del microhatch**

- Baja concentración
- Media concentración
- Alta concentración

#### **1.7.1.2. Concentración del fermento probiótico**

- Baja concentración
- Media concentración
- Alta concentración

### **1.7.2. Variables dependientes**

#### **1.7.2.1. Crecimiento poblacional de rotíferos**

- Densidad poblacional (ind/mL).

#### **1.7.2.2. Fertilidad de los rotíferos**

- Porcentaje de hembras portadoras de huevos.

#### **1.7.2.3. Calidad del agua**

- Concentración de nitritos (mg/L).
- Concentración de nitratos (mg/L).
- pH

## MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

### 2.1. Marco teórico

#### 2.1.1. FONDEPES

FONDEPES es un organismo del Estado peruano que depende del Ministerio de la Producción. Su objetivo es ayudar a que la pesca artesanal y la acuicultura ayudando a acceder a préstamos, asesoramiento técnico, capacitación y a llevar a cabo proyectos de inversión. Para aumentar la productividad, modernizar los procesos y hacer que el sector sea más sostenible. A la par de estos objetivos, su trabajo incorpora como eje la conservación de los recursos naturales y el cuidado del ambiente, buscando que el desarrollo pesquero y acuícola se realice sin comprometer los ecosistemas (PRODUCE, 2023).

#### 2.1.2. Centro de acuicultura morro sama

Es una instalación operada FONDEPES, organismo adscrito al PRODUCE, centro dedicado a la investigación, desarrollo y transferencia de tecnologías acuícola marina, enfocándose en la producción y cultivo de organismos marinos de alto valor comercial, como la corvina (*Cilus gilberti*), el lenguado (*Paralichthys adspersus*), la chita (*Anisotremus scapularis*) y otros de la misma cadena productiva (FONDEPES, 2010).

### **2.1.3. Acuicultura simbiótica**

La acuicultura simbiótica es un enfoque sostenible que imita los procesos ecológicos naturales. Por ello la acuicultura multitrófica integrada (IMTA) se ha consolidado como un modelo exitoso y eco-amigable, aprovechando los desechos como nutriente (Yang et al., 2025). En un sistema IMTA, se combinan especies, creando un ciclo cerrado que mejora la calidad del agua y reduce la necesidad de insumos externos (Yang et al., 2025). Este enfoque no solo optimiza el uso de los recursos, también contribuye a la sostenibilidad ambiental al disminuir la eutrofización (Yang et al., 2025). En resumen, la acuicultura simbiótica, a través de la implementación de sistemas IMTA, representa una estrategia clave para avanzar hacia una acuicultura más sostenible y resiliente.

### **2.1.4. Acuicultura marina**

La acuicultura marina se enfoca en la cría, cultivo y recolección de individuos acuáticos como océanos, mares o zonas costeras. Esta actividad ha adquirido gran relevancia en las últimas décadas debido a la creciente demanda mundial de productos pesqueros y a la sobreexplotación de los recursos marino-naturales (FAO, 2022). A través de sistemas controlados, contribuyendo significativamente a la seguridad alimentaria, la generación de empleo y el desarrollo económico de la zona costera. Los avances tecnológicos han permitido desarrollar diferentes métodos de cultivo, entre

ellos las jaulas flotantes en mar abierto, los estanques costeros, los sistemas de recirculación RAS y los sistemas IMTA, cada una de estas estrategias busca optimizar el uso de los recursos, minimizar el impacto ambiental y aumentar la productividad (Chopin, 2023). Por otro lado, la acuicultura marina también se presenta como una oportunidad de diversificar la economía azul, lo que posiciona a la acuicultura marina como un sector estratégico en el comercio global de productos acuáticos (Naylor et al., 2021). En conclusión, la acuicultura marina es una actividad clave para el desarrollo sostenible de las zonas litorales.

#### **2.1.5. Acuicultura marina en el Perú**

La acuicultura marina en el Perú ha demostrado un crecimiento continuo en los últimos años, siendo un sector clave en la economía nacional, especialmente en las regiones costeras del país. Las prácticas sostenibles no solo se centran en el uso eficiente de los recursos marinos, también en la reducción de los impactos ambientales, estas medidas son implementadas bajo la supervisión de IMARPE y SANIPES, las cuales regulan y velan por la calidad e inocuidad de los productos acuáticos que se comercializan tanto a nivel nacional como internacional (IMARPE, 2023; SANIPES, 2023). En resumen, la acuicultura marina en el Perú sigue creciendo y adaptándose a las necesidades del mercado global.

### **2.1.6. Acuicultura marina en Tacna**

La acuicultura marina es una actividad económica importante para regiones costeras como Tacna. El desarrollo de la acuicultura ha sido impulsado por instituciones como FONDEPES y PRODUCE, que promueven proyectos en zonas como Morro Sama, donde se han evaluado condiciones óptimas para el cultivo de lenguado, corvina y concha de abanico (FONDEPES, 2023; PRODUCE, 2024). Sin embargo, la acuicultura en esta región enfrenta desafíos como la escasez de agua y las variaciones térmicas, que afectan el crecimiento de los organismos (Boyd & Tucker, 2014). Para superar estas limitaciones, se han implementado tecnologías como los sistemas de recirculación (RAS), que optimizan el uso del agua y mejoran la supervivencia de las especies (Timmons & Ebeling, 2013). En Tacna, estos avances representan una oportunidad para diversificar la producción y fortalecer la seguridad alimentaria.

### **2.1.7. Alimento vivo de peces marinos**

El alimento vivo en acuicultura marina representa un pilar para el éxito en el cultivo de especies ícticas, particularmente durante las fases larvarias y de juveniles tempranos; la relevancia de estos organismos radica en su capacidad para proveer nutrientes esenciales, estimular el comportamiento alimenticio natural y favorecer altas tasa de supervivencia (Støttrup & McEvoy, 2003; Dhont et al., 2013).

### 2.1.8. Rotíferos (*Brachionus plicatilis*)

Los rotíferos son microinvertebrados propios de ambientes acuáticos y semiacuáticos; presentan pseudoceloma, carecen de segmentación y poseen simetría bilateral. Se reconocen principalmente por tres rasgos: una corona ciliada ubicada en la región anterior, que contribuye a la locomoción y está formada por dos bandas concéntricas (trocus y cíngulo); un mástax o faringe muscular provista de piezas mandibulares endurecidas (trofi); y una lórica, entendida como la pared corporal que brinda protección y soporte (Romero L., 2008).

Además de estas características morfológicas, los rotíferos destacan por su rápido ciclo de vida y su alta capacidad de reproducción, lo que permite mantener cultivos abundantes en periodos cortos.

#### 2.1.8.1. Clasificación taxonómica

La sistematización biológica, identificada por *Segers* (2002) es la siguiente:

Reino: Animalia

Filo: Rotífera

Clase: Eucariota

Orden: Ploima

Familia: *Brachionidae Ehrenberg*

Género: *Brachionus pallas*

Especie: *Brachionus plicatilis*

### **2.1.8.2. Alimentación de rotíferos**

La alimentación de los rotíferos abarca una variedad de fuentes, siendo las microalgas marinas las más utilizadas debido a su alto contenido nutricional, entre las especies más relevantes para su alimentación se encuentran *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*, sin embargo, en sistemas de cultivo masivo, resulta complejo depender únicamente de las microalgas debido a su disponibilidad y costos. Por esta razón, se suele complementar su dieta con levadura, la cual sirve como un suplemento que mejora la nutrición y el rendimiento en los cultivos. (Fukusho et al., 1976; Kitajima et al., 1980; Watanabe, 1978).

### **2.1.8.3. Ciclo reproductivo de *Brachionus plicatilis*.**

El ciclo biológico en rotíferos se estima que tiene una duración de 72 a 96 horas a 25°C a 28 °C, alcanzan su etapa adulta después de 36 horas, a partir de ese momento, las hembras empiezan a poner huevos cada cuatro horas aproximadamente (King & Snell, 1977; Gilbert & Litton, 1978).

Los rotíferos monogonontes son organismos cíclicos, con reproducción partenogenética heterogónica, que presentan un ciclo de vida que alterna entre fases sexuales y asexuales. Durante la fase asexual (fase amíctica), en la que no se encuentra presente el macho, las hembras diploides producen huevos mediante mitosis, los cuales son diploides y se desarrollan partenogenéticamente en hembras a través de una

partenogénesis ameiótica, generando un único cuerpo polar tras una sola división celular. La reproducción sexual ocurre en la fase mítica, cuando se da lugar a la combinación de gametos. En términos generales, la mayor parte del ciclo reproductivo de los rotíferos se desarrolla en la fase asexual (Birky y Gilbert, 1971; Ruttner Kolisko, 1974; Gilbert 1983; Wallace et al., 2006). Cuando las hembras se encuentran en condiciones específicas de temperatura y salinidad, cambian su modalidad reproductiva a la sexual, lo que da lugar a hembras tanto micticas como amícticas. Aunque ambas presentan una morfología similar, las hembras micticas generan huevos haploides (Hoff y Snell, 1987).

#### **2.1.8.4. Parámetros de cultivo de rotíferos**

##### **a. Temperatura**

Los rotíferos de la especie *Brachionus plicatilis* alcanzan una tasa de crecimiento óptima cuando se mantienen a temperaturas entre 20°C y 25°C (Rosales, 2012).

##### **b. Salinidad**

La capacidad de *B. plicatilis* para tolerar la salinidad fluctúa entre 1 y 97 g/L, siendo las concentraciones más adecuadas las que oscilan entre 4 y 35 g/L (Blaz, 2019).

### c. Oxígeno disuelto

En cultivos masivos de rotíferos, es crucial mantener niveles de oxígeno disuelto entre 10 y 15 mg/L para lograr altas densidades, lo que ayuda a controlar los niveles de amonio, materia orgánica y bacterias (Sanches y Álvarez, 2014).

### d. pH

El pH óptimo para el cultivo de rotíferos se encuentra en el rango de 6.6 a 8.0 (Blaz, 2019).

#### 2.1.8.5. Probióticos en la acuicultura

En el ámbito de la acuicultura, los probióticos se emplean para optimizar la salud intestinal de los peces y camarones, mejorar la eficiencia en la conversión de alimentos, reducir la tasa de mortalidad y disminuir el uso de antibióticos, lo que promueve una producción más sostenible (Moriarty, 1997). Además, los probióticos tienen un papel vital en la mejora de la calidad del agua, ya que ayudan a reducir la proliferación de bacterias patógenas en los sistemas acuícolas (Gomez et al., 2019). En la acuicultura, se utilizan diversas cepas de bacterias lácticas, como *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, y *Pediococcus spp.*, además de bacterias de los géneros *Bacillus* y *Enterococcus* (Gänzle, 2015). Estas cepas se eligen no solo por su capacidad para adherirse al tracto intestinal de los organismos acuáticos, sino también por sus

propiedades antimicrobianas y su habilidad para influir en el equilibrio del microbiota intestinal de los animales.

#### **2.1.8.6. Fermento probiótico**

El fermento probiótico en acuicultura es una preparación biológica de microorganismos vivos, como bacterias y levaduras, que mejoran la salud intestinal y el rendimiento de la producción acuícola. Se adicionan en las dietas de peces y camarones para promover el incremento productivo, la conversión alimentaria y la resistencia a enfermedades (López et al., 2019). Además, ayudan a reducir la acumulación de residuos orgánicos, mejorando la calidad del agua. Los probióticos compiten con patógenos en el tracto digestivo, producen metabolitos antimicrobianos y modulan el sistema inmunológico, lo que fortalece la respuesta frente a infecciones (Gänzle, 2015; Moriarty, 1997).

## **2.2. Antecedentes**

### **2.2.1. Antecedentes internacionales**

#### **2.2.1.1. Evaluación de cepas probióticas**

En el estudio realizado por Balcázar (2002) titulado "Evaluación de mezclas de cepas probióticas en juveniles de *Litopenaeus vannamei*", se investigaron alternativas para el control de enfermedades en la acuicultura, enfocándose en el cultivo de camarones. El artículo destaca el uso de probióticos como una estrategia preventiva

frente a infecciones bacterianas, mejorando la salud general de los camarones. La investigación evaluó las interacciones de cuatro cepas bacterianas específicas (*Vibrio P62*, *Vibrio P63*, *Vibrio alginolyticus* y *Bacillus P64*). Los resultados mostraron que las mezclas de estas cepas fueron capaces de inhibir en más del 50% los patógenos más comunes, tales como *Vibrio harveyi* y *Vibrio vulnificus*. De manera destacada, las combinaciones probióticas *P62-P64*, *P62-P63-Ili* y *P63-Ili* demostraron tener efectos beneficiosos, no solo al inhibir patógenos, sino también al mejorar la supervivencia de los camarones y ofrecer protección frente a enfermedades, como el Virus de la Mancha Blanca, una de las principales amenazas para esta especie. Estos hallazgos sugieren que el uso de mezclas de cepas probióticas puede ser una solución efectiva para mejorar la salud y resistencia de los camarones en cultivos comerciales.

#### **2.2.1.2. Evaluación de bacterias de un cultivo de rotíferos**

Sandoval Garibaldi (2006) desarrolló en México la investigación titulada “*Evaluación de bacterias aisladas de un cultivo de rotíferos (Brachionus plicatilis) como candidatas para su uso como probióticos en larvas de corvina blanca (Atractoscion nobilis)*”, orientada a determinar si los microorganismos asociados a cultivos de rotíferos podían emplearse como probióticos en larvas de corvina blanca. La premisa del trabajo fue que ciertas bacterias benéficas pueden disminuir la mortalidad durante las etapas iniciales de cultivo en acuicultura. Para ello, se aislaron

diversas cepas bacterianas a partir de rotíferos producidos en la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Universidad Autónoma de Baja California y, posteriormente, se evaluó su efecto mediante ensayos de inocuidad con larvas de corvina blanca. En general, las larvas sometidas a la mayoría de las cepas presentaron niveles de supervivencia mayores al 70%; sin embargo, la cepa RotA2 se asoció con una mortalidad considerablemente alta. En contraste, las cepas RotA6, RotA5, RotA8 y RotA4 mostraron mejor desempeño como posibles probióticos, ya que contribuyeron a incrementar la supervivencia larvaria y evidenciaron actividad antibacteriana frente a patógenos bajo condiciones controladas.

### **2.2.1.3. Calidad de agua y la supervivencia de rotíferos**

El estudio llevado a cabo por Schryver y Verstraete (2009) en España, titulado "Evaluación del uso de probióticos para mejorar la calidad del agua y la supervivencia de rotíferos *Brachionus plicatilis* en cultivos acuícolas", tenía como propósito investigar cómo la inclusión de microorganismos probióticos, específicamente las cepas *Lactocaseibacillus paracasei* y *Lactiplantibacillus plantarum*, en sistemas acuícolas podría optimizar la calidad del agua y aumentar la supervivencia de los rotíferos, disminuyendo las concentraciones de compuestos nocivos como el amoníaco y los nitritos. Para ello, se utilizó una metodología experimental con un enfoque cuantitativo y comparativo, en la que se compararon cultivos de rotíferos tratados con

probióticos frente a un grupo control sin tratamiento. Se midieron parámetros relacionados con la calidad del agua, la supervivencia de los rotíferos y los niveles de compuestos tóxicos. Los resultados indicaron que los cultivos tratados con probióticos experimentaron una disminución considerable de las concentraciones de amoníaco y nitritos, lo que resultó en una mejora significativa de la calidad del agua. En conclusión, el uso de probióticos en el cultivo de rotíferos se presentó como una estrategia efectiva para mejorar la producción acuícola, especialmente en cultivos masivos.

#### **2.2.1.4. Probióticos en el engorde del lenguado senegalés**

El estudio realizado por García de la Banda (2011), titulado "Efecto de la adición de dos probióticos (*Shewanella putrefaciens* y *Shewanella baltica*) en el engorde del lenguado senegalés", llevado a cabo en la Universidad de León (España), se centró en investigar cómo la incorporación de probióticos en la dieta del lenguado senegalés podría mejorar su rendimiento en sistemas acuícolas. Esta especie, de gran relevancia en la acuicultura, enfrenta varios problemas de salud debido al estrés causado por los sistemas de producción intensiva, lo cual afecta su digestión y aumenta su vulnerabilidad a infecciones bacterianas. El estudio exploró cómo las cepas *Shewanella putrefaciens* y *Shewanella baltica* podrían mejorar la salud de los peces, optimizando su metabolismo, reduciendo deformidades y previniendo enfermedades. La investigación concluyó que el uso de probióticos en la alimentación del lenguado

senegalés es una estrategia eficaz para promover su crecimiento, mejorar su bienestar y disminuir los riesgos sanitarios asociados con la acuicultura intensiva. Además, enfatizó la importancia de aplicar dietas comerciales adecuadas y protocolos de cultivo.

#### **2.2.1.5. Microorganismos benéficos en el alimento vivo**

Villamil Díaz et al. (2012) desarrollaron en Colombia el estudio titulado “*Uso de microorganismos benéficos en el alimento vivo para controlar la aparición de enfermedades durante el cultivo de animales acuáticos*”, en el que se analiza la incorporación de agentes biológicos favorables en el alimento vivo como estrategia sanitaria en la crianza. El trabajo aborda el empleo de herramientas como probióticos, bacteriófagos e inmunoestimulantes, planteándolas como alternativas de base biotecnológica para reducir el uso rutinario de antibióticos. En particular, se destaca que la aplicación de estos microorganismos puede contribuir a potenciar las defensas de los organismos cultivados. En conjunto, los hallazgos indican que dichas alternativas tendrían potencial para mejorar el estado sanitario de los sistemas de cultivo, disminuir la probabilidad de brotes y promover una acuicultura con menor impacto ambiental y mayor enfoque preventivo (Villamil Díaz et al., 2012).

#### **2.2.1.6. Probióticos en el cultivo de rotíferos**

El trabajo denominado “*Estudio del efecto de bacterias probióticas sobre el sistema inmune en especies relevantes para la acuicultura marina*” (Román Fuentes,

2014) investigó la influencia de dos cepas con posible uso probiótico *Vagococcus fluvialis* L21 y *Enterococcus gallinarum* L1, sobre las defensas de peces marinos de interés acuícola. Las bacterias se evaluaron en forma viable y también inactivadas mediante calor y exposición a radiación UV, aplicándose en especies como dorada, lubina, corvina y bocinegro, y midiendo distintos marcadores vinculados a la respuesta inmune. Los hallazgos evidenciaron modificaciones significativas en parámetros como la fagocitosis, la actividad de peroxidasa y la explosión respiratoria de los leucocitos. En consecuencia, se concluyó que *V. fluvialis* L21 presenta un importante efecto inmunomodulador, especialmente en lubina, lo que respalda su potencial para fortalecer la salud y el desempeño sanitario en cultivos marinos (Román Fuentes, 2014).

#### **2.2.1.7. Implementación de probióticos en acuicultura**

El estudio realizado por Ringø et al. (2016) en Noruega, titulado "Estrategias para maximizar los beneficios de los probióticos en la acuicultura: Evaluación de especies y cepas", tuvo como objetivo identificar las estrategias más eficaces para optimizar el uso de probióticos en la acuicultura. La investigación señala que los efectos de los probióticos varían según la especie y la cepa, ya que diferentes microorganismos pueden influir de manera diversa en la salud de los peces y en la dinámica del ecosistema acuático. Según los resultados, la introducción temprana de

probióticos, particularmente cepas como *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.* y *Pediococcus sp.*, en las primeras fases del desarrollo de los organismos acuáticos, puede proporcionar beneficios sustanciales al facilitar el establecimiento de un microbiota intestinal competitiva y saludable desde el comienzo. Además, se destaca que factores ambientales como la temperatura, salinidad y calidad del agua tienen un impacto considerable sobre la viabilidad de los probióticos y su capacidad para colonizar el tracto intestinal del hospedador. Por lo tanto, se sugiere monitorear y ajustar continuamente las condiciones del entorno acuático para lograr resultados óptimos. Finalmente, el estudio subraya la importancia de la capacitación y educación de los productores sobre el uso adecuado de los probióticos para garantizar su implementación exitosa en los sistemas acuícolas.

#### **2.2.1.8. Probióticos y la eficiencia alimentaria**

El estudio realizado por Kousoulaki et al. (2019) en Grecia, titulado "Efectos de la suplementación con probióticos en la dieta de la dorada (*Sparus aurata*) sobre la conversión alimentaria y el crecimiento", se centró en evaluar cómo la incorporación de probióticos en la dieta de los peces afectaba la conversión alimentaria y el crecimiento. Los resultados indicaron que las cepas *Lactobacillus sp.* y *Bacillus sp.* no solo mejoraron la eficiencia en el uso de nutrientes, sino que también favorecieron la salud intestinal de la dorada, lo que resultó en un aumento en el crecimiento y una

reducción en la cantidad de alimento requerido para alcanzar un peso específico. Este beneficio se atribuyó a la capacidad de los probióticos para optimizar la digestión y mejorar la disponibilidad de nutrientes. Además, se observó un incremento notable en la actividad de enzimas digestivas, como la amilasa y la proteasa, en los peces alimentados con probióticos, lo que contribuyó a una mayor eficiencia en la conversión alimentaria.

#### **2.2.1.9. Eficiencia de un biocida sobre cultivos de rotífero**

García Hernández (2019), en España, desarrolló el estudio “*Metodología del cultivo de rotífero (Brachionus spp.) en un criadero de rodaballo y ensayo de eficiencia de un biocida sobre cultivos experimentales de rotífero*”, donde describe el protocolo de producción de rotíferos aplicado en el criadero de rodaballo de la granja Quilmas (Carnota) y evalúa un biocida alternativo frente al tratamiento habitual. El objetivo fue determinar si el nuevo producto mejoraba el control microbiológico sin comprometer el desempeño de los cultivos intensivos. En general, el biocida no generó cambios relevantes en el rendimiento ni en la condición de los rotíferos, aunque se observó una disminución de la carga bacteriana durante las fases iniciales del ensayo (García Hernández, 2019).

#### **2.2.1.10. Estudio de tilapia en el Nilo**

El estudio de Ahmed et al. (2021) en Egipto, titulado "Efecto de la inclusión de un probiótico comercial en la dieta de Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) en acuicultura", investigó cómo la inclusión del probiótico comercial *BiOWISH* en la dieta de la tilapia del Nilo influía en su rendimiento. Se aplicaron diversas concentraciones de probiótico y se observó una mejora en el crecimiento, la digestión y la absorción de nutrientes. La tilapia, conocida por su adaptabilidad y rápido crecimiento, es ideal para estudiar la eficacia de los probióticos en acuicultura. En este estudio experimental, los peces fueron divididos en dos grupos: uno con dieta estándar y otro con dieta enriquecida con probióticos. Durante 12 semanas, se monitorearon parámetros como el crecimiento, la conversión alimentaria, la supervivencia y la respuesta inmune. Los resultados mostraron que los peces alimentados con la dieta probiótica lograron un mayor aumento en su tasa de crecimiento y peso en comparación con el grupo control. Estos resultados destacan los beneficios de los probióticos para mejorar el crecimiento y la salud general de los peces en sistemas acuícolas.

#### **2.2.1.11. Probióticos en la dieta de peces cebra**

El estudio de Park et al. (2021) en Corea del Sur, titulado "Impacto de los probióticos en la dieta de peces cebra (*Danio rerio*): Eficiencia alimentaria y respuesta inmune a patógenos", investigó el efecto de los probióticos en la dieta de los peces

cebra, utilizando la cepa *Lactobacillus fermentum* para fortalecer la respuesta inmunológica de los peces y mejorar la conversión alimentaria. Este estudio es relevante tanto para la acuicultura como para el uso de los peces cebra como modelo experimental. Los investigadores dividieron los peces cebra en tres grupos: uno con una dieta control, otro con una dieta enriquecida con una cepa específica de probióticos, y un tercero con una mezcla de probióticos. Durante 8 semanas, se monitorearon parámetros como el crecimiento, la conversión alimentaria, la mortalidad y los marcadores inmunológicos. Los resultados confirmaron que los probióticos mejoraron la resistencia de los peces a las enfermedades y optimizaron la eficiencia alimentaria, lo que destaca su relevancia para prácticas más sostenibles en la acuicultura.

#### **2.2.1.12. Fermento para la maduración del agua en acuicultura**

El estudio de Gómez et al. (2022) en Costa Rica, titulado "Bomba de fermento para la maduración del agua en acuicultura simbiótica", tuvo como objetivo emplear biotecnología, particularmente la técnica simbiótica, para generar una población significativa de bacterias probióticas, levaduras beneficiosas y zooplancton que ayuden a proteger a peces y camarones de enfermedades causadas por patógenos. Durante la fase de maduración, el fermento favorece el desarrollo de un biofilm en el fondo del estanque, que está enriquecido con zooplancton, con una notable población de rotíferos, copépodos y nematodos. La formulación de esta "bomba de fermento" pertenece al grupo *Bioaquafloc*. El uso de este fermento mejora significativamente la

calidad del agua y microbiota del estanque, proporcionando beneficios sustanciales para la acuicultura simbiótica.

#### **2.2.1.13. Probióticos y salud intestinal en peces**

El estudio de Fernández et al. (2024) en España, titulado "Efecto de la inclusión de probióticos en la dieta de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) sobre la salud intestinal y la respuesta inmune", se centró en evaluar cómo los probióticos influyen en la salud intestinal y la respuesta inmune de la trucha arcoíris, una especie clave en la acuicultura debido a su alta demanda y valor comercial. La investigación se realizó en un entorno controlado durante 8 semanas, con el objetivo de analizar el impacto de varias cepas probióticas en estos factores esenciales para mejorar la sostenibilidad y eficiencia de la producción acuícola. Los peces fueron divididos en grupos, donde el grupo control recibió una dieta estándar sin probióticos, mientras que los grupos experimentales recibieron dietas enriquecidas con cepas probióticas como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* y *Bacillus subtilis*. Los resultados indicaron que la inclusión de probióticos en la dieta de la trucha arcoíris generó efectos positivos en la salud intestinal, mostrando una mejora en la composición del microbiota intestinal, con un incremento de bacterias beneficiosas y una reducción de patógenos potenciales.

## **2.2.2. Antecedentes nacionales**

### **2.2.2.1. Probióticos en tilapia**

El trabajo realizado por Valenzuela et al. (2022) en Lambayeque, Perú, titulado "Impacto de la suplementación con probióticos en la dieta de *Tilapia del Nilo* (*Oreochromis niloticus*) en Lambayeque: Hacia una acuicultura sostenible", investigó los efectos de la incorporación de probióticos en la dieta de la tilapia sobre su rendimiento productivo. Dada la alta demanda de la tilapia y su capacidad para adaptarse a diversos entornos de cultivo, esta especie fue seleccionada para el estudio. El experimento, realizado en una granja acuícola controlada durante 12 semanas, consistió en tres grupos: uno control con dieta convencional sin probióticos y dos grupos experimentales que recibieron dietas suplementadas con *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* y *Bacillus subtilis*. Se evaluaron parámetros como el crecimiento, la eficiencia alimentaria y la tasa de supervivencia. Los resultados indicaron que los grupos tratados con probióticos mostraron un incremento del 15% al 20% en el crecimiento y una notable mejora en la conversión alimentaria, lo que refleja una mayor eficiencia en la utilización de los nutrientes.

#### **2.2.2.2. Probióticos en el cultivo de camarones**

El estudio realizado por Castro et al. (2022) en las regiones costeras de Ica y Arequipa, Perú, titulado "Evaluación del uso de probióticos en la alimentación de camarones *Litopenaeus vannamei* en Perú: Una alternativa a los tratamientos antimicrobianos", tuvo como objetivo analizar cómo la inclusión de probióticos en la dieta de los camarones *Litopenaeus vannamei*, una especie de alto valor comercial y rápido crecimiento, influye en su desarrollo y salud. Ante los problemas derivados de enfermedades en los cultivos de camarones, el estudio propuso los probióticos como una alternativa más sostenible frente a los tratamientos antimicrobianos. El experimento se llevó a cabo durante 10 semanas en condiciones controladas, donde se compararon tres grupos de camarones: uno control con dieta estándar sin probióticos y dos grupos experimentales con dietas enriquecidas con diferentes cepas de un probiótico comercial. Se evaluaron parámetros como el crecimiento (peso y longitud), conversión alimentaria, tasa de supervivencia y salud general. Los resultados mostraron que los grupos tratados con probióticos experimentaron un aumento significativo en la tasa de crecimiento, alcanzando mayores pesos y mejorando la conversión alimentaria, lo que sugiere una mayor eficiencia en el aprovechamiento de los nutrientes.

### **2.2.2.3. Efectos de probióticos en truchas**

El estudio realizado por Mendoza et al. (2023) en Arequipa, titulado "Impacto de los probióticos en la salud y crecimiento de Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en Arequipa, Perú: Enfrentando desafíos en acuicultura intensiva", tuvo como objetivo evaluar el efecto de los probióticos en la salud y el crecimiento de las truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). El experimento se desarrolló en un sistema de acuicultura intensiva durante 10 semanas, donde se establecieron tres grupos: uno control con dieta estándar y dos grupos experimentales alimentados con dietas enriquecidas con diferentes cepas de probióticos. Los parámetros medidos incluyeron el crecimiento (peso y longitud), la conversión alimentaria, la mortalidad y los indicadores de salud intestinal. Además, se realizaron análisis microbiológicos del contenido intestinal y se sometieron los peces a pruebas de desafío con patógenos comunes, como *Aeromonas hydrophila*, para evaluar la efectividad de los probióticos en la resistencia a enfermedades. Los resultados indicaron que los grupos tratados con probióticos mostraron un aumento considerable en peso y longitud en comparación con el grupo control. También se observó una mejora significativa en la tasa de conversión alimentaria, lo que sugiere una mayor eficiencia en la digestión y absorción de nutrientes.

#### **2.2.2.4. Uso de probióticos en la acuicultura de tilapia**

El estudio realizado por González et al. (2023) en la región de Piura, Perú, titulado "Evaluación del Efecto de un Probiótico Comercial en la Dieta de Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) en Piura, Perú: Mejorando la Acuicultura Sostenible", se centró en mejorar las técnicas de acuicultura, evaluando el impacto de un probiótico comercial en la dieta de la tilapia del Nilo, una especie clave en términos económicos y alimentarios. El experimento se llevó a cabo en un sistema de acuicultura controlado durante 12 semanas, dividiendo a los peces en tres grupos: uno control con dieta estándar y dos grupos experimentales con dietas enriquecidas con diferentes concentraciones de un probiótico específico. Durante el estudio, se midieron parámetros como el crecimiento, la conversión alimentaria, la tasa de supervivencia y varios indicadores de salud. Además, se realizaron análisis del microbiota intestinal para evaluar cómo los probióticos influían en la composición microbiana del tracto digestivo. Los resultados mostraron un incremento en las bacterias beneficiosas y una reducción en los patógenos potenciales, sugiriendo que el uso de probióticos puede favorecer un microbiota intestinal más equilibrado y saludable.

#### **2.2.2.5. Probióticos y salud intestinal en peces nativos**

El estudio de López et al. (2024) en la región amazónica de Perú, titulado "Efecto de los probióticos en la dieta del paiche (*Arapaima gigas*) en la región

amazónica de Perú: Una alternativa para la salud y sostenibilidad en acuicultura", evaluó cómo los probióticos en la dieta del paiche, uno de los peces de agua dulce más grandes, afectan su crecimiento y salud. El experimento, realizado en un entorno controlado durante diez semanas, incluyó tres grupos de paiches: uno con dieta estándar y dos con dietas suplementadas con probióticos. Se evaluaron parámetros como crecimiento, conversión alimentaria, supervivencia y salud intestinal. Los resultados mostraron que los peces alimentados con probióticos tuvieron un crecimiento significativamente mayor. Este estudio resalta los probióticos como una herramienta efectiva para mejorar la salud intestinal, el crecimiento y la sostenibilidad del cultivo de paiche, además de reducir la necesidad de antibióticos, contribuyendo a una acuicultura más sostenible y respetuosa con el medio ambiente.

### **2.2.3. Antecedentes regionales**

#### **2.2.3.1. Probióticos en alevinos de peces nativos de tacna**

El estudio realizado por López y Quispe (2022) en la región de Tacna, titulado "Uso de probióticos en alevinos de especies nativas de Tacna: Mejora de la producción y sostenibilidad en acuicultura", tuvo como objetivo mejorar la producción acuícola y promover prácticas más ecológicas en la región. Durante un período de 8 semanas, se monitorearon alevinos, evaluando parámetros como el incremento de peso, la conversión alimentaria, la mortalidad y la composición del microbiota intestinal. Los

resultados indicaron que el uso de probióticos no solo mejoró el crecimiento y la salud intestinal de los alevinos, sino también su resistencia a enfermedades, contribuyendo a la sostenibilidad de la acuicultura. Los autores concluyeron que los probióticos son una herramienta valiosa para conservar las especies nativas y mejorar la calidad de los productos acuáticos.

#### **2.2.3.2. Probióticos en pollos de engorde en Tacna**

El estudio realizado por Fernández (2022) en la región de Tacna, titulado "Inclusión de probióticos en la dieta de pollos de engorde en Tacna: Alternativas para mejorar la salud y crecimiento minimizando antibióticos", tuvo como objetivo mejorar la salud y el crecimiento de las aves mientras se reduce el uso de antibióticos en la producción avícola. El estudio evaluó el impacto de los probióticos en diferentes aspectos de la producción avícola, realizándose en varias granjas de Tacna durante un ciclo de engorde de 42 días. Los resultados concluyeron que la inclusión de probióticos en la dieta de los pollos de engorde es eficaz para mejorar su crecimiento, salud intestinal y resistencia a enfermedades. Se recomienda la implementación de programas de capacitación para los avicultores locales, con el fin de promover el uso de tecnologías innovadoras que favorezcan una producción más sostenible y rentable.

### **2.2.3.3. Impacto de probióticos en gambas en Tacna**

El estudio realizado por Mendoza y Quispe (2023) en la región de Tacna, titulado "Efecto de los probióticos en el crecimiento y salud de gambas (*Litopenaeus vannamei*) en sistemas de acuicultura en Tacna: Hacia prácticas sostenibles", evaluó cómo la inclusión de probióticos en la dieta de las gambas influía en parámetros como el crecimiento, la conversión alimentaria y la resistencia a enfermedades. Además, el estudio identificó la cepa probiótica más eficaz para mejorar la salud general de los animales. El experimento se llevó a cabo en un criadero de gambas en Tacna, donde se dividieron los animales en tres grupos: uno control con dieta estándar, un grupo experimental con una cepa específica de probióticos y otro grupo con una mezcla de diferentes cepas. Durante 10 semanas, se midieron parámetros como el incremento de peso, la conversión alimentaria, la mortalidad, la salud intestinal y la respuesta inmune. Los resultados mostraron un aumento superior al 30% en el peso de las gambas que recibieron dietas con probióticos en comparación con el grupo control. Este estudio resalta la importancia de los probióticos en la acuicultura de gambas en Tacna, mostrando su potencial para mejorar la salud y la rentabilidad de los cultivos.

## **METODOLOGÍA**

### **3.1. Aseguramiento de calidad preexperimental**

Antes del desarrollo de los ensayos, se llevaron a cabo acciones orientadas a asegurar condiciones adecuadas para la ejecución del estudio, considerando la preparación del área de trabajo, la revisión del estado operativo de los equipos y la adecuación de los materiales a emplear. De manera previa, se verificaron las condiciones iniciales del cultivo y la estabilidad del medio, procurando uniformidad en los organismos experimentales y control en los factores que podrían influir en los resultados.

#### **3.1.1. Higienización del material de laboratorio**

La higienización del material de laboratorio se realizó antes del inicio de los ensayos experimentales con el propósito de evitar contaminaciones y asegurar condiciones adecuadas para el desarrollo del estudio. Los recipientes, instrumentos y utensilios empleados fueron sometidos a un proceso de limpieza mediante lavado con agua y detergente neutro, seguido de un enjuague exhaustivo para eliminar residuos. Posteriormente, el material fue desinfectado utilizando soluciones apropiadas y dejado en reposo el tiempo necesario, garantizando así su correcta utilización durante el experimento.

### **3.1.1.1. Materiales y equipos**

#### **a. Reactivos**

- Hipoclorito de sodio
- Ácido clorhídrico
- Guantes de nitrilo
- Mascarilla descartable

#### **b. Contenedores y utensilios**

- Bandejas con tapa HDPE/PP
- Escurridor
- Esponjas y cepillos
- Probeta de vidrio

#### **c. Equipos**

- Estufa

### **3.1.2. Metodología de la higienización del material de laboratorio**

Para asegurar una adecuada limpieza y acondicionamiento de la cristalería y del material utilizado en los cultivos de *Brachionus plicatilis*, se aplicó un procedimiento sistemático que incluyó etapas de lavado, desinfección y desincrustación química. Todas las actividades se llevaron a cabo en un área destinada al manejo de reactivos, empleando equipo de protección personal (bata, guantes y gafas de seguridad).

**a. Prelavado**

En primera instancia se realizó un pre-lavado del material que estuvo en contacto con el cultivo (balde, recipientes, mangueras y accesorios):

- Cada pieza se enjuagó bajo un flujo continuo de agua dulce, con el fin de arrastrar restos orgánicos, partículas en suspensión y suciedad visible.
- Mediante un cepillo de laboratorio se frotaron cuidadosamente las paredes internas, la base y las zonas de difícil acceso, asegurando la remoción de residuos adheridos.
- Antes de continuar a la fase química, se verificó visualmente que no quedaran restos macroscópicos.
- Esta fase tuvo como propósito disminuir la carga orgánica inicial y favorecer la acción posterior de las soluciones desinfectantes y desincrustantes.

**b. Preparación de soluciones**

Las etapas de desinfección y desincrustación se efectuaron utilizando hipoclorito de sodio (NaOCl) y ácido clorhídrico (HCl), dispuestos en recipientes independientes:

- Se seleccionaron recipientes resistentes a los reactivos, tanto plásticos como de vidrio, y se rotularon indicando el nombre del compuesto, la concentración de uso y la fecha de preparación.
- Se mantuvo una separación estricta entre las soluciones oxidantes (NaOCl) y las soluciones ácidas (HCl) para evitar cualquier interacción que pudiera dar lugar a la liberación de gases peligrosos.

Las funciones principales de cada solución fueron:

- **NaOCl:** Agente de desinfección y reducción de la carga microbiana.
- **HCl:** Agente para remover incrustaciones minerales y depósitos calcáreos.

### **c. Desinfección con NaOCl**

El material previamente sometido al prelavado se introdujo completamente en la solución de hipoclorito de sodio. Se eliminaron las burbujas de aire adheridas a las superficies mediante movimientos suaves del recipiente, favoreciendo un contacto homogéneo con el desinfectante. Los recipientes permanecieron tapados durante todo el proceso para minimizar la evaporación y evitar la contaminación externa. El tiempo de permanencia en la solución fue de 48 horas a temperatura ambiente y sin exposición directa a la luz solar. Una vez finalizado el tiempo de contacto, se procedió a la etapa de enjuague intermedio.

**d. Enjuague intermedio**

Los materiales se retiraron de la solución de NaOCl y se enjuagaron tres veces con abundante agua dulce, con la finalidad de eliminar residuos de cloro. Para algunos materiales considerados críticos, se aplicó de forma opcional una solución de tiosulfato de sodio como neutralizante de cloro, de acuerdo con las concentraciones establecidas en el protocolo interno. Posteriormente, se efectuó un enjuague adicional con agua dulce para remover cualquier traza del neutralizante. Esta fase fue esencial para evitar que el cloro residual generara efectos tóxicos sobre los rotíferos o sobre la comunidad microbiana benéfica del sistema simbiótico.

**e. Desincrustación ácida con HCl**

Una vez eliminados los restos de hipoclorito, el material se sumergió por completo en la solución de ácido clorhídrico contenida en un recipiente independiente y rotulado. Los recipientes se mantuvieron cerrados durante 48 horas, para permitir la acción del ácido sobre depósitos de carbonatos, sales y otras incrustaciones minerales adheridas a la superficie. El manejo del HCl se realizó cumpliendo las normas de seguridad (uso de guantes adecuados, protección ocular y, de ser necesario, campana de extracción). El objetivo de esta etapa fue obtener superficies limpias y uniformes, reduciendo puntos de anclaje para organismos indeseables como protozoarios u otros competidores.

**f. Enjuague final**

Al concluir el periodo de desincrustación, el material se retiró de la solución ácida y se enjuagó de 3 a 5 veces con agua dulce. Como criterio de control, se comprobó la ausencia de olor residual a cloro o a ácido en el material tratado. En caso necesario, se realizó un enjuague complementario con agua de cloro o filtrada, para asegurar que el material fuera completamente inocuo para el cultivo.

**g. Secado y almacenamiento**

Se coloca el material en gradilla en área limpia; secar al aire o en estufa suave (según compatibilidad). Almacenar seco en recipientes herméticos o bolsas con cierre zipper.

**3.1.3. Calibración de equipos****3.1.3.1. Materiales**

- Cronometro
- (2) Termostatos
- (2) Termómetros
- (1) Multiparámetro

**3.1.3.2. Metodología**

La calibración de los termómetros y termostatos se realizó utilizando un multiparámetro previamente calibrado y un baño de hielo ( $\approx 0,0 \pm 0,2$  °C) en un ambiente controlado.

### 3.1.3.2.1. Calibración del termómetro

- Se prepararon tres puntos de referencia: 0 °C (baño de hielo), 25 °C y 40 °C (agua templada y agua caliente).
- En cada punto, el termómetro se colocó a la misma profundidad que la sonda del multiparámetro.
- Se registraron tres lecturas por cada temperatura.
- Se compararon los valores con el multiparámetro y se aceptó el termómetro cuando la diferencia fue  $\leq \pm 0,5$  °C. En caso contrario, se aplicó una corrección utilizando una tabla simple de ajuste (offset).
- Cuando fue necesario, se reajustó el termostato en cada punto hasta alcanzar el rango de tolerancia establecido.

## 3.2. Preparación y diseño experimental

### 3.2.1. Donación y preparación del material biológico

Para todo el estudio se dispuso de aproximadamente  $5,7 \times 10^7$  rotíferos de la especie *Brachionus plicatilis*, donados por el laboratorio de hatchery, destinados a la ejecución de ensayos preliminares y ensayos registrables. El material biológico se recibió estéril y libre de protozoarios; en particular, no se detectó el género *Euplotes*, frecuentemente asociado a contaminaciones. Para asegurar la entrega aséptica, el personal del laboratorio ejecutó manualmente el protocolo de lavado del cultivo. Con

el fin de cuantificar con precisión el inóculo entregado, se realizaron dos conteos (antes y después del lavado), considerando la mortalidad asociada al procedimiento. El cultivo donado derivó de un aislamiento del stock masivo de la cepa FONDEPES/CN, aclimatada a condiciones estandarizadas de temperatura y salinidad, mismas que se emplearon en los ensayos posteriores.

Es importante señalar que en todos los tratamientos experimentales se incorporó la microalga *Tetraselmis suecica* a una concentración de  $5 \times 10^4$ , la cual fue utilizada como fuente alimenticia y suministrada de manera periódica, con una frecuencia de una ración cada cuatro horas, a fin de asegurar una disponibilidad constante del alimento durante el desarrollo del ensayo.

### **3.2.2. Definir tratamientos y replicas**

La metodología seleccionada responde a un enfoque experimental de carácter cuantitativo. Se realizaron pre-ensayos (fase piloto) para evaluar parámetros operativos y ajustar los procedimientos antes de los ensayos formales; su propósito fue estandarizar el diseño (unidades experimentales, densidad inicial, condiciones fisicoquímicas, tiempos de muestreo y variables de respuesta). Posteriormente, se ejecutaron los ensayos registrables (ensayos formales que cumplen todos los requisitos metodológicos), con tratamientos definidos y réplicas independientes por tratamiento, incluyendo un control.

La asignación de tratamientos a las unidades experimentales se realizó al azar (diseño completamente al azar en bloques, según la fuente de variación a controlar), manteniendo condiciones constantes para minimizar sesgos. Se establecieron criterios de inclusión/exclusión de datos y procedimientos de aseguramiento de la calidad (QA/QC) para muestreo y registro. Las variables de respuesta predefinidas se analizaron mediante estadística inferencial: verificación de supuestos (normalidad y homogeneidad de varianzas), ANOVA y Tukey para comparaciones múltiples.

#### **3.2.2.1.Pre-ensayos**

Se llevaron a cabo pre-ensayos con el objetivo de evaluar diversos parámetros y estandarizar los procedimientos para los ensayos registrables posteriores. Los resultados obtenidos de estos pre- ensayos no se incluyen en el capítulo de resultados de la tesis, ya que su finalidad principal fue la estandarización del diseño experimental y la optimización de las condiciones para los ensayos definitivos.

- **Pre-ensayo de dosificación de Microhatch:** Se evaluaron 20 tratamientos (dosis), 5 controles, 5 ensayos y tres repeticiones por tratamiento.
- **Pre-ensayo de evaluación de ingredientes:** Se evaluaron 20 tratamientos, 5 controles, 5 ensayos (tipos de harinas), y tres repeticiones por tratamiento.
- **Pre-ensayo de dosificación de la harina proteica vegetal:** Se evaluaron 8 tratamientos (dosis), 1 control, 2 ensayos con 3 réplicas por tratamiento

- **Pre-ensayo de dosificación del fermento probiótico:** Se evaluaron 8 tratamientos (dosis), 2 controles, 2 ensayos con tres repeticiones por tratamiento.

### **3.2.2.2. Ensayos registrables**

Los ensayos registrables se organizaron en tres fases (Microhatch, harina proteica vegetal y fermento probiótico), en las que se seleccionaron las seis mejores dosis a partir de los pre-ensayos. Todas las fases siguieron un mismo diseño experimental: dos ensayos con tres tratamientos por ensayo (sumando seis dosis), un control y cuatro réplicas por tratamiento.

## **3.3. Ensayos**

### **3.3.1. Probiótico comercial Microhatch**

Se seleccionó el probiótico comercial Microhatch como insumo principal de esta tesis con el objetivo de desarrollar un fermento probiótico aplicable a sistemas de cultivo de rotíferos. La decisión se fundamentó, primero, en la evidencia reportada por la literatura especializada, que identifica un número acotado de cepas con efectos benéficos comprobados en organismos marinos. Asimismo, el uso de un probiótico comercial reduce barreras logísticas asociadas a la obtención de cepas de colección y garantiza comparabilidad con futuros estudios. En síntesis, Microhatch se adoptó como el iniciador más adecuado para la elaboración del fermento probiótico, alineando la

validez científica de la selección con la viabilidad técnica y operativa requerida para el desarrollo y la evaluación del producto en condiciones estandarizadas.

### **3.3.1.1. Materiales**

#### **a. Insumos biológicos**

- Microhatch
- Rotíferos (*Brachionus plicatilis*)
- Agua marina filtrada y esterilizada por radiación UV.
- Microalga marina (*Tetraselmis suecica*)
- Lugol

#### **b. Equipo y/o instrumento**

- Contador de mano
- Refractómetro de mano
- Balanza analítica
- Estereoscopio
- Microscopio

#### **c. Materiales de laboratorio**

- Probeta (100 mL y 1 L)
- Pipetas graduadas (0,5 mL, 1 mL, 5 mL y 10 mL)
- Mangueras de silicona

- Barbed connectors (20 uds)
- Conectores para manguera de aire (T y Y)
- Baldes (5 L)
- Bandeja de cultivo (100 L)
- Mangueras de silicona
- Piedras difusoras
- Paliglobos
- Jarras de plástico (500 mL y 1 L)
- Placa de conteo
- Cámara de Neubauer
- Porta y cubre objeto
- Piceta (250 mL)
- Papel aluminio

### **3.3.2. Metodología de dosis del probiótico comercial Microhatch**

Se diseñó un conjunto de ensayos controlados y comparativos en los que se añadieron diferentes concentraciones del producto al medio de cultivo, manteniendo constantes las condiciones previamente establecidas para el sistema. El trabajo se enfocó en cultivos de rotíferos alimentados con microalgas y probiótico, utilizando en todos los casos una concentración fija de microalga de  $5 \times 10^5$  células/mL.

En cada tratamiento se registraron las siguientes variables de respuesta:

- Número total de rotíferos.
- Número de hembras con huevo.
- Número total de huevos.
- Parámetros de calidad de agua: pH, amonio, nitrito y nitrato.

El probiótico se evaluó en un intervalo de 0 a 3 g/L, tomando como referencia tanto las indicaciones del fabricante como antecedentes reportados en la literatura. Durante la fase de preensayos se probaron 20 niveles de dosificación, correspondientes a: 0; 0,005; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,15; 0,3; 0,4; 0,5; 0,7; 0,9; 1; 1,5; 1,8; 2,2; 2,5; 2,8 y 3 g/L.

Con base en los resultados preliminares, para los ensayos definitivos (que se describen y analizan en esta tesis) se seleccionaron seis tratamientos. El diseño experimental se estructuró en dos ensayos independientes, cada uno con tres tratamientos (tres niveles de probiótico), incluyendo un tratamiento control, y con cuatro réplicas por tratamiento, lo que permitió comparar de forma robusta el efecto de las distintas dosis frente al control. Para la ejecución de los ensayos se emplearon baldes de 5 L, previamente esterilizados, equipados con piedras difusoras, paliglobos y mangueras de silicona, con el fin de asegurar una aireación homogénea en todos los tratamientos y reducir posibles fuentes de error en los conteos y mediciones posteriores.

### **3.3.3. Evaluación y dosificación de la harina proteica vegetal**

Se evaluaron tres harinas, una de origen animal y dos de origen vegetal, mediante pre-ensayos orientados a evaluar su eficacia y dosificación; la harina proteica vegetal mostró mejor desempeño. vegetal utilizado confidencialidad y dado el carácter innovador de su aplicación en acuicultura (sin antecedentes documentados), se mantendrán en reserva los nombres de las tres harinas y, en particular, la identidad de la proteína vegetal utilizada en la formulación de fermentos probióticos. En el ensayo registrable (ensayo final) se empleará exclusivamente la harina con mejor resultado, replicando el protocolo aplicado con el probiótico comercial Microhatch.

#### **3.3.3.1. Materiales**

##### **a. Insumos biológicos**

- Harina proteica vegetal

##### **b. Equipos**

- Contador de mano
- Refractómetro de mano
- Balanza analítica
- Estereoscopio
- Microscopio
- Cámara digital

**c. Material de laboratorio**

- Probeta (100 mL y 1 L).
- Pipetas graduadas (0.5 mL, 1 mL, 5 mL y 10 mL).
- Mangueras de silicona.
- Barbed connectors (20 und).
- Conectores para manguera de aire (T y Y).
- Baldes (5 L).
- Bandeja de cultivo (100 L).
- Mangueras de silicona.
- Piedras difusoras.
- Paliglobos.
- Jarras de plástico (500 mL y 1 L).
- Placa de conteo.
- Cámara de Neubauer.
- Porta y cubre objeto.
- Piceta (250 mL).
- Papel aluminio.
- Cucharas plásticas.

### **3.3.3.2. Metodología de evaluación y dosificación de la harina proteica vegetal**

La incorporación de harinas como ingredientes potenciales del fermento probiótico se realizó mediante una fase exploratoria estructurada en dos etapas preliminares, orientadas a:

- Seleccionar el tipo de harina con mejor desempeño biológico en el cultivo de rotíferos,
- Definir el rango de dosificación de dicha harina para su posterior uso en el fermento.

Es importante señalar que estas etapas exploratorias se emplearon para el ajuste del protocolo y, por ello, no se incluyen en los resultados finales, aunque constituyen la base para el diseño del ensayo definitivo.

- **Etapas de evaluación de harinas**

En la primera etapa se evaluaron distintas harinas de uso acuícola como insumos incorporables al sistema de cultivo de rotíferos. Para ello:

- ✓ Se formularon varios tratamientos, cada uno con un tipo de harina diferente, además de un tratamiento control sin adición de harina.
- ✓ Las harinas se añadieron al medio de cultivo en concentraciones previamente definidas como seguras y factibles para el sistema, siguiendo referencias técnicas y experiencias previas del laboratorio.

En todos los tratamientos se mantuvieron constantes las condiciones del sistema de cultivo:

- ✓ Diseño técnico-funcional (baldes con aireación difusa).
- ✓ Volumen de trabajo
- ✓ Densidad inicial de rotíferos
- ✓ Salinidad
- ✓ Temperatura
- ✓ Régimen de alimentación con microalgas

Las variables de respuesta consideradas fueron:

- ✓ Número total de rotíferos.
- ✓ Número de hembras ovígeras.
- ✓ Número total de huevos producidos.

Tras la comparación de los tratamientos, la harina de origen vegetal fue la que mostró el mejor desempeño en términos de crecimiento poblacional y reproducción, por lo que fue seleccionada como candidata para la siguiente etapa.

- **Etapas de dosificación de la harina seleccionada**

En la segunda etapa se buscó determinar el rango de dosis más adecuado de la harina vegetal seleccionada para su posterior incorporación al fermento

probiótico. Para ello se llevaron a cabo dos ensayos preliminares, cada uno estructurado con:

- ✓ Cuatro tratamientos (cuatro niveles de dosificación de la harina vegetal).
- ✓ Un tratamiento control sin harina.
- ✓ Dos réplicas por tratamiento.

En conjunto, estos ensayos permitieron evaluar ocho dosis diferentes de la harina seleccionada. Durante esta fase se volvieron a registrar las mismas variables de respuesta:

- ✓ Número total de rotíferos.
- ✓ Número de hembras ovígeras.
- ✓ Número total de huevos.

De igual forma, se mantuvo inalterado el diseño técnico-funcional del sistema (baldes con aireación difusa) y las condiciones ambientales y operativas (volumen, densidad inicial, salinidad y temperatura), conforme a lo estandarizado en los pre-ensayos y a los protocolos previamente aplicados con Microhatch. Esto permitió que las diferencias observadas se atribuyeran principalmente al efecto de la harina y no a variaciones del sistema.

- **Ensayo final con dosis seleccionadas**

A partir del análisis de los resultados de las etapas exploratorias (tipo de harina y rango de dosificación), se seleccionó un conjunto de seis dosis de la harina vegetal para el ensayo final, considerada ya como parte del estudio principal y registrado en esta tesis. Estas seis dosis se distribuyeron en dos ensayos, cada uno estructurado con:

- ✓ (03) Tratamientos (tres niveles de dosificación de harina).
- ✓ (01) Tratamiento control sin harina.
- ✓ (04) Réplicas por tratamiento.

En esta fase, se volvieron a evaluar las mismas variables de respuesta:

- ✓ Número total de rotíferos.
- ✓ Número de hembras ovígeras.
- ✓ Número total de huevos.

El análisis comparativo entre tratamientos y control permitió identificar la dosis óptima de harina vegetal, adecuada para su integración en la formulación del fermento probiótico, asegurando un balance entre mejora productiva y viabilidad práctica del sistema de cultivo.

### **3.3.1. Elaboración del fermento probiótico**

La calidad del agua es un factor determinante en la viabilidad de los sistemas de cultivo acuático, debido a que la composición química, la cantidad de nutrientes y la actividad microbiana ejercen una influencia directa en el ecosistema. La fermentación probiótica es una opción muy efectiva para favorecer estas condiciones, ya que por medio de la introducción controlada de microorganismos beneficiosos se consiguen transformar el sustrato en compuestos nutritivos y estabilizadores del medio. El fermento probiótico que se pretende conseguir en el presente trabajo es el resultado de la combinación de harina proteica vegetal, melaza de caña, levadura seca (*Saccharomyces cerevisiae*) y Microhatch (probiótico comercial). Las materias primas seleccionadas poseen la capacidad de dar lugar a metabolitos bioactivos.

#### **3.3.1.1. Materiales**

##### **a. Material biológico**

- Harina proteica vegetal.
- Microhatch (probiótico comercial).
- Levadura seca (*Saccharomyces cerevisiae*).
- Melaza de caña.
- Agua de mar filtrada.

**b. Instrumentos y/o equipos**

- Termómetro de canastilla.
- Balanza analítica.
- Agitador magnético.

**c. Materiales de laboratorio**

- Matraz de 150 mL y 500 mL.
- Baño maría con termostato (25–30 °C).
- Globo #12.
- Varilla de agitación estéril.
- Pipetas y probetas.
- Jarra de 1 L.
- Papel aluminio.

**3.3.1.2. Metodología de elaboración del fermento probiótico**

La evaluación del fermento probiótico se dividió en dos etapas, al igual que en los anteriores insumos: preensayos y ensayos finales. En los preensayos, se evaluaron 8 dosis (tratamientos) y 2 controles, realizando 2 ensayos con tres repeticiones por tratamiento. Para los ensayos finales, se seleccionaron 6 dosis, las cuales fueron distribuidas en 2 ensayos: 3 tratamientos y 1 control con cuatro repeticiones por tratamiento. Las variables evaluadas fueron: número total de rotíferos, número de

hembras ovígeras, número de huevos y parámetros de calidad de agua (pH, amonio, nitrito y nitrato). Se mantuvo constante el diseño técnico-funcional del sistema de cultivo durante todo el proceso.

**a. Condiciones del medio**

- Salinidad: 20–25 ‰ (adaptada al cultivo de rotíferos).
- Temperatura de fermentación: 25–30 °C.
- pH objetivo de 4 a 5.

**b. Preparación del medio base**

- Pesar la harina de leguminosa y la melaza.
- Disolver en 150 mL de agua de mar filtrada y autoclavada.
- Homogeneizar hasta obtener una mezcla uniforme y sin grumos.

**c. Pasteurización**

- Colocar la mezcla en un baño maría a 60°C durante 20 minutos.

**d. Inoculación**

- Completar el volumen hasta 200 mL con agua de mar filtrada.
- Añadir Microhatch y levadura seca.
- Mezclar suavemente hasta lograr dispersión uniforme.

**e. Fermentación**

- Tapar el matraz con un globo #12.

- Agitar 2 veces al día durante 24 a 48 h, hasta que infle el globo.
- Monitorear pH cada 12 h y observar olor y formación de espuma: el fermento debe oler ligeramente ácido, sin malos olores ni espuma excesiva.
- Finalización y almacenamiento
- Conservar en refrigeración a 4 °C hasta 7 días, o en alícuotas congeladas para uso prolongado.

**Tabla 1**

*Composición de la mezcla del fermento probiótico (200 mL) para cultivo de Brachionus plicatilis*

INGREDIENTES	CANTIDAD EXACTA	PORCENTAJE SOBRE EL TOTAL (%)
Harina proteica vegetal	0.55 g	0.28%
MicroHatch (probiótico comercial)	0.35 g	0.18%
Levadura seca ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	0.15 g	0.08%
Melaza de caña (composición no especificada)	1.50 g	0.75%
Agua de mar filtrada y pasteurizada	197.45 mL	98.73%
<b>Total</b>	<b>200 mL (~200 g)</b>	<b>100%</b>

*Nota.* Los porcentajes se calcularon respecto al volumen final de 200 mL (~200 g) asumiendo densidad  $\approx 1$  g/mL y redondeando a dos decimales.

**Tabla 2***Explicación de los beneficios de cada ingrediente*

<b>INGREDIENTE</b>	<b>COMPOSICIÓN PRINCIPAL</b>	<b>BENEFICIOS ESPECÍFICOS</b>
Harina proteica vegetal	Ácidos grasos	Proporciona fuente en ácidos grasos.
MicroHatch	Bacterias probióticas	Aumenta la diversidad microbiana benéfica.
Levadura (Saccharomyces cerevisiae)	Carbohidratos, proteínas y vitaminas B	Realiza la fermentación de azúcares, produciendo etanol y CO <sub>2</sub> .
Melaza de caña	Azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa).	Proporciona fuente de azúcares.
Agua de mar filtrada	Sales minerales (NaCl, MgSO <sub>4</sub> , CaCl <sub>2</sub> , etc.)	Mantiene la salinidad adecuada para el cultivo de rotíferos en condiciones marinas, lo cual es esencial para evitar el shock osmótico.

## RESULTADOS

**Tabla 3**

*Legenda de abreviaturas y símbolos utilizados en las tablas y figuras*

ABREVIATURA	DEFINICIÓN	UNIDAD / CÁLCULO	COMENTARIO / USO
<b>Dosis (g)</b>	Gramos de Microhatch aplicados	g	Factor experimental
<b>Día</b>	Jornada de evaluación/medición	—	Bloque/tiempo de medición
<b>Nt/mL</b>	Rotíferos totales por mililitro (biomasa)	1/mL	Métrica primaria de producción
<b>Nh/mL</b>	Hembras por mililitro	1/mL	Subpoblación femenina
<b>NFh/mL</b>	Hembras ovígeras por mililitro (con huevo)	1/mL	Calidad reproductiva
<b>% HHH</b>	Porcentaje de hembras ovígeras sobre hembras	%	$\% = (NFh/Nh) \times 100$
<b>n</b>	Tamaño de muestra	—	Número de observaciones
<b><math>\bar{x}</math> (media)</b>	Promedio aritmético	unidad de la métrica	Tendencia central
<b>DE</b>	Desviación estándar	unidad de la métrica	Dispersión
<b>IC95%</b>	Intervalo de confianza al 95%	unidad de la métrica	Incertidumbre de la media
<b>SS</b>	Suma de cuadrados (ANOVA)	—	Entre dosis / Dentro (error) / Total
<b>df</b>	Grados de libertad (ANOVA)	—	k-1; N-k; N-1
<b>MS</b>	Cuadrado medio (ANOVA)	—	SS/df

#### 4.1. Evaluación del probiótico comercial Microhatch

**Tabla 4**

*Promedios y ranking por dosis del probiótico comercial Microhatch*

	DOSIS (g)	Nt/mL MEDIA	Nt/mL sd	NFh/ mL MEDIA	Nh/mL MEDIA	RANK Nt/MI	RANK NFh/ ml	RANK Nh/mL	RANK % HHH
1	0	162,18	25,66	17,214	17,214	5	6	6	3
2	0,02	218,11	21,10	22,750	22,75	4	4	4	4
3	0,30	282,43	62,01	27,107	28,714	2	2	2	6
4	0,50	449,90	139,31	46,679	56,714	1	1	1	5
5	0,70	267,76	40,28	25,107	27,929	3	3	3	7
6	1,50	78,36	61,15	17,429	17,429	6	5	5	2
7	2,80	40,61	68,86	8,179	8,214	7	7	7	1

*Nota.* La mejor dosis para producción (Nt/mL) es 0,5 g.

**Tabla 5***Medias por dosis del probiótico comercial Microhatch*

	<b>DOSIS (g)</b>	<b>MEDIA</b>
<b>1</b>	0	162,1786
<b>2</b>	0,02	218,1071
<b>3</b>	0,30	282,4286
<b>4</b>	0,50	449,8929
<b>5</b>	0,70	267,75
<b>6</b>	1,50	78,3571
<b>7</b>	2,80	40,6071

*Nota.* La mayor media en Nt/mL (producción) se observa en la dosis 0,5 (media 449,89).

**Tabla 6***Mejor dosis por día (criterio: Nt/mL) del probiótico comercial Microhatch*

	<b>DÍA</b>	<b>DOSIS (g)</b>	<b>Nt/mL MEDIA</b>	<b>NFh/mL MEDIA</b>	<b>Nh/mL MEDIA</b>	<b>% HHH MEDIA</b>
<b>1</b>	1	1,5	204,50	19,75	19,75	9,67
<b>2</b>	2	0,5	344,00	64,00	76,75	18,86
<b>3</b>	3	0,5	392,50	31,75	42,00	8,08
<b>4</b>	4	0,5	483,00	39,25	51,25	8,11
<b>5</b>	5	0,5	559,00	46,5	57,25	8,27
<b>6</b>	6	0,5	592,25	64	76,25	10,81
<b>7</b>	7	0,5	581,00	64	76,25	11,03

*Nota.* La dosis 0,5 g, lo que refleja consistencia operativa.

**Tabla 7**

*Índice compuesto ponderado por dosis del probiótico comercial Microhatch*

	<b>DOSIS (g)</b>	<b>SCORE COMPUESTO</b>	<b>Nt/mL MEDIA</b>	<b>NFh/ mL MEDIA</b>	<b>Nh/mL MEDIA</b>	<b>% HHH MEDIA</b>
<b>1</b>	0,50	1,7410	449,8929	46,6786	56,7143	10,5634
<b>2</b>	0,30	0,2929	282,4286	27,1071	28,7143	9,9044
<b>3</b>	0,70	0,1793	267,7500	25,1071	27,9286	9,4557
<b>4</b>	0,02	-0,1049	218,1071	22,7500	22,75	10,6531
<b>5</b>	0	-0,5063	162,1786	17,2143	17,2143	10,7333
<b>6</b>	1,50	-0,6118	78,3571	17,4286	17,4286	35,1547
<b>7</b>	2,80	-0,9903	40,6071	8,1786	8,2143	54,6869

*Nota.* La dosis líder es 0,5 g.

**Tabla 8**

*Dosis más efectiva por biomasa (Nt/mL) del probiótico comercial Microhatch*

	<b>DOSIS (g)</b>	<b>Nº</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DESV. EST.</b>
<b>1</b>	0	28	162,18	25,66
<b>2</b>	0,02	28	218,11	21,10
<b>3</b>	0,30	28	282,43	62,01
<b>4</b>	0,50	28	449,89	139,30
<b>5</b>	0,70	28	267,75	40,28
<b>6</b>	1,50	28	78,36	61,15
<b>7</b>	2,80	28	40,61	68,86

*Nota.* La mejor dosis según aumento de biomasa de cultivo es 0,5 g.

**Tabla 9**

*Dosis más efectiva por hembras ovígeras con el probiótico comercial Microhatch*

	<b>DOSIS (g)</b>	<b>N°</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DESV. EST.</b>
<b>1</b>	0	28	17,21	4,11
<b>2</b>	0,02	28	22,75	7,57
<b>3</b>	0,3	28	27,11	10,59
<b>4</b>	0,5	28	46,68	18,89
<b>5</b>	0,7	28	25,11	10,75
<b>6</b>	1,5	28	17,43	8,86
<b>7</b>	2,8	28	8,18	5,78

*Nota.* La mejor dosis para hembras ovígeras es 0,5 g (media 46,68).

**Tabla 10**

*Resumen de la producción (Nt/mL) en función de la dosis del probiótico comercial*

*Microhatch*

	<b>DOSIS (g)</b>	<b>N°</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DE</b>	<b>IC95% inf</b>	<b>IC95% sup</b>
<b>1</b>	0	28	162,1786	25,6631	152,2274	172,1297
<b>2</b>	0,02	28	218,1071	21,1000	209,9254	226,2889
<b>3</b>	0,30	28	282,4286	62,0098	258,3837	306,4735
<b>4</b>	0,50	28	449,8929	139,305	395,876	503,9097
<b>5</b>	0,70	28	267,75	40,2838	252,1296	283,3704
<b>6</b>	1,50	28	78,3571	61,1545	54,6439	102,0704
<b>7</b>	2,80	28	40,6071	68,8554	13,9078	67,3065

*Nota.* La fila sombreada se reconoce como la “MEJOR DOSIS” tiene la media alta.

**Tabla 11**

*Resumen de ovígeras (NFh/mL) por dosis del probiótico comercial Microhatch*

	DOSIS (g)	N°	MEDIA	DE	IC95% inf	IC95% sup
1	0	28	17,214	4,113	15,620	18,8091
2	0,02	28	22,750	7,570	19,815	25,6854
3	0,30	28	27,107	10,588	23,002	31,2126
4	0,50	28	46,679	18,886	39,356	54,0017
5	0,70	28	25,107	10,751	20,939	29,2759
6	1,50	28	17,4286	8,863	13,9919	20,8652
7	2,80	28	8,1786	5,780	5,9372	10,4199

*Nota.* La fila sombreada se reconoce como la “MEJOR DOSIS” tiene la media alta.

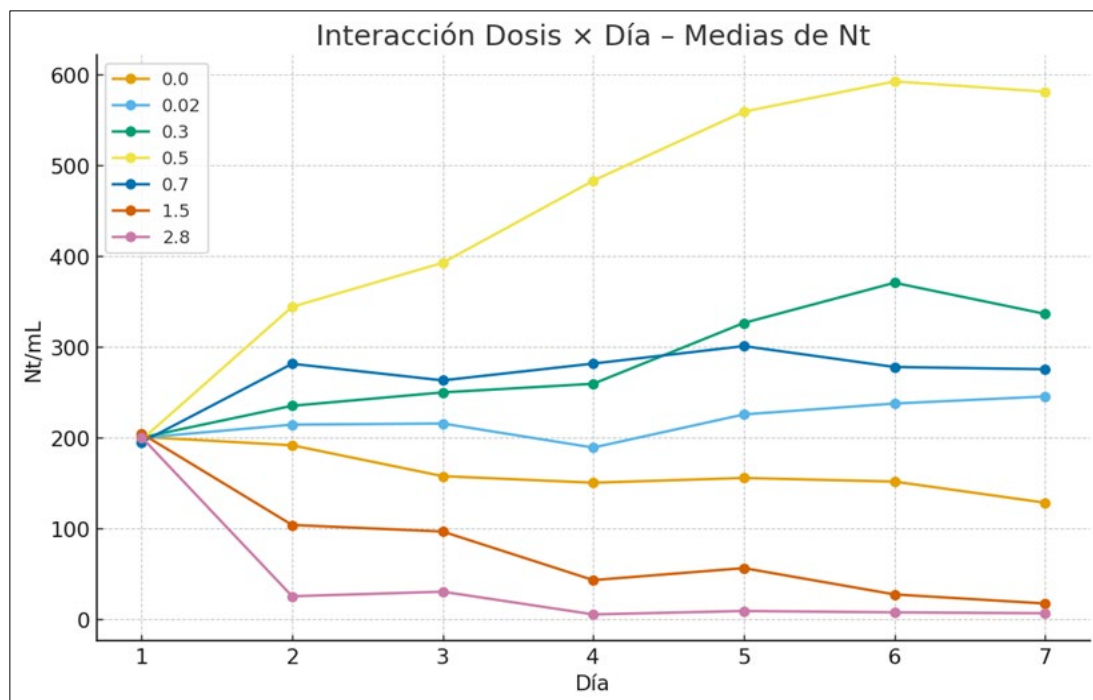
**Tabla 12**

*Evaluación de calidad del agua en el cultivo de rotíferos*

	DÍAS DE CULTIVO	DOSIS (g)	pH	AMONIO (mg/L)	NITRITO (mg/L)	NITRATO (mg/L)
1	1	0	8,5	0,10	0,200	0,5
2	7	0,02	7,5	0,05	0,100	0,5
3	7	0,30	7,5	0,05	0,010	0,5
4	7	0,50	7	0,05	0,010	0,5
5	7	0,70	6,5	0,05	0,025	0,5
6	7	1,50	4	0,05	0,025	0,5
7	7	2,80	4	0,05	0,010	0,5

**Figura 1**

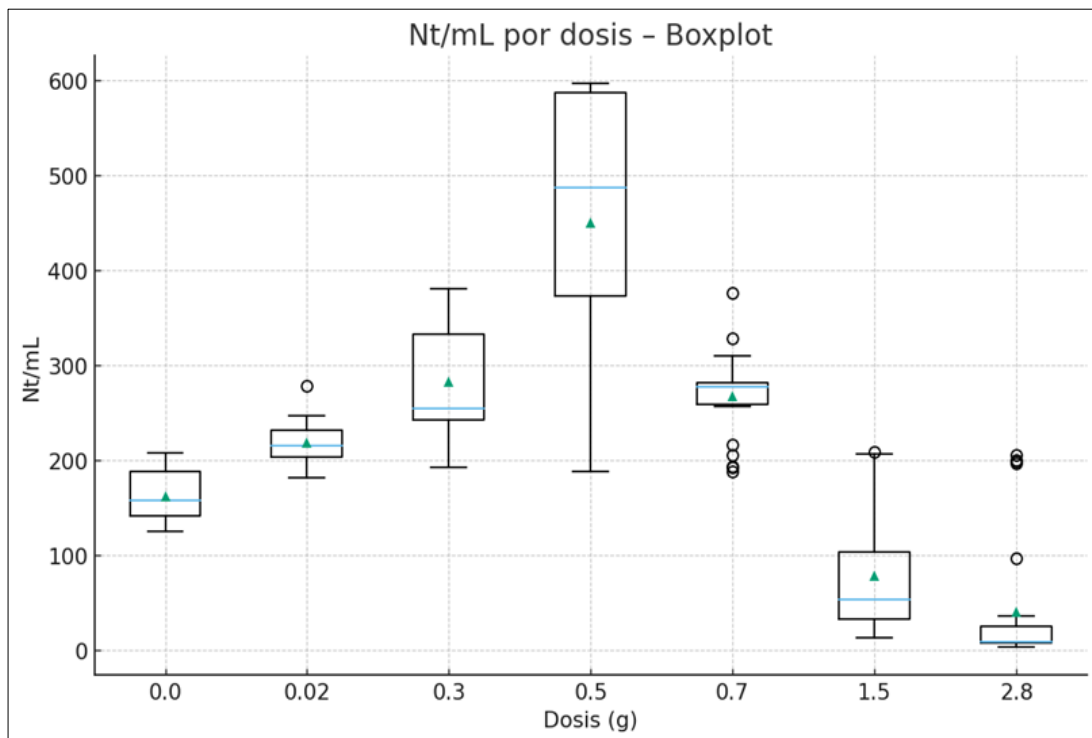
*Interacción de dosis por día sobre el número total de rotíferos (Nt) con el probiótico comercial Microhatch*



**Nota.** Las líneas no paralelas sugieren interacción del efecto de la dosis cambia según el día.

**Figura 2**

*Diagrama de caja de Nt/mL por dosis del probiótico comercial Microhatch*



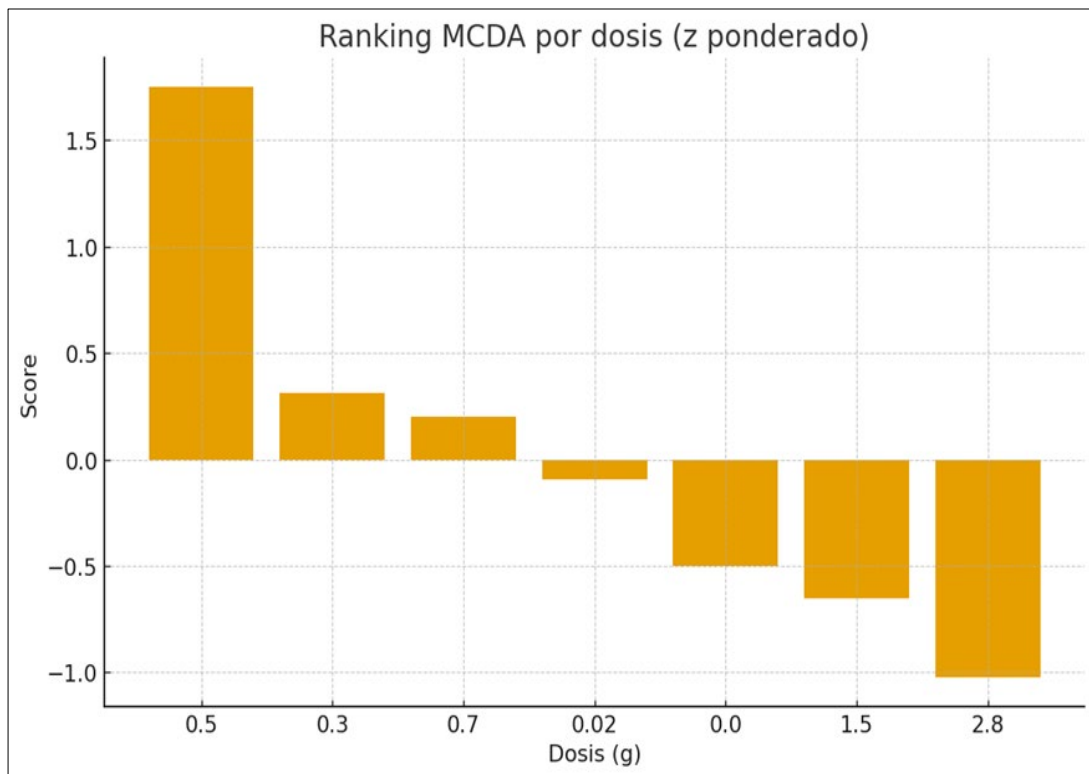
**Nota.** Muestra mediana, cuartiles y posibles valores extremos.

El Boxplot muestra la distribución de la biomasa de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) en Nt/mL para cada dosis de Microhatch. La dosis de 0,5 g presenta una mediana alta y una distribución más concentrada, lo que sugiere que esta dosis es la más eficaz y estable en la producción de biomasa. En contraste, las dosis más bajas (0,02 g) y más altas (1,5 g y 2,8 g) muestran mayor variabilidad y algunos valores atípicos, lo que

indica que estos tratamientos no producen resultados efectivos como la dosis de 0,5 g. Esto sugiere que la dosis de 0,5 g podría ser la óptima.

### Figura 3

*Ranking integral de dosis del probiótico comercial Microhatch*



**Nota.** A mayor score, mejor desempeño integral.

El gráfico presenta un ranking de dosis basado en un análisis multivariado MCDA, utilizando ponderaciones para las variables Nt (0,5), NFh (0,3), Nh (0,2) y % HHH (0,1). A medida que la dosis aumenta, el puntaje obtenido en el análisis disminuye,

sugiriendo que las dosis más altas (1,5 g y superiores) tienen un desempeño integral inferior. Por el contrario, la dosis de 0,5 g destaca con el puntaje más alto, indicando que es la opción más favorable según los criterios ponderados del análisis.

#### 4.2. Evaluación de la harina proteica vegetal

**Tabla 13**

*Promedios y ranking por dosis de la harina proteica vegetal.*

	<b>DOSIS</b> (g)	<b>Nt/mL</b>	<b>RANKING</b> Nt/mL	<b>NFh/ ml</b>	<b>Nh/mL</b>	<b>% HHH</b>	<b>IR</b>
<b>1</b>	0	193,36	5	19,96	19,86	10,39	14,70
<b>2</b>	0,12	221,18	4	20,54	21,46	9,34	14,59
<b>3</b>	0,80	441,18	1	43,75	48,57	9,85	40,98
<b>4</b>	1	284,57	2	24,04	25,21	8,48	22,59
<b>5</b>	1,50	225,68	3	14,29	14,57	6,48	17,99
<b>6</b>	1,80	159,61	6	13,75	14,07	8,79	11,18
<b>7</b>	2,20	107,11	7	9,50	9,61	11,61	-6,60

**Nota.** En esta tabla se presentan los promedios por dosis de los parámetros medidos, así como el ranking basado en la concentración de Nt/mL.

La tabla muestra los promedios por dosis de varios parámetros, incluyendo Nt/mL, NFh/mL, Nh/mL, % HHH, e IR. La dosis de 0,8 g tiene el promedio más alto de Nt/mL (441.18), lo que la posiciona como la dosis más efectiva en cuanto a la producción de rotíferos. Además, esta dosis también lidera en el ranking de Nt/mL. Por otro lado, la dosis de 2,2 g presenta los valores más bajos en Nt/mL y ocupa el último lugar en el

ranking, indicando que es menos eficiente en comparación con las demás dosis. El IR negativo en la dosis de 2,2 g sugiere un impacto negativo en el rendimiento.

**Tabla 14**

*Resumen de producción (Nt/mL) en función de la dosis de harina proteica vegetal*

	<b>DOSIS (g)</b>	<b>N°</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DE</b>	<b>IC95% inf</b>	<b>IC95% sup</b>
<b>1</b>	0,00	28	193,36	3,64	185,89	200,82
<b>2</b>	0,12	28	221,18	2,47	216,12	226,24
<b>3</b>	0,80	28	441,18	34,54	370,31	512,05
<b>4</b>	1,00	28	284,57	8,19	267,78	301,37
<b>5</b>	1,50	28	225,68	5,49	214,40	236,95
<b>6</b>	1,80	28	159,61	4,99	149,36	169,85
<b>7</b>	2,20	28	107,11	10,97	84,60	129,61

*Nota.* La dosis de 0,8 g es la más efectiva para la producción de rotíferos.

**Tabla 15**

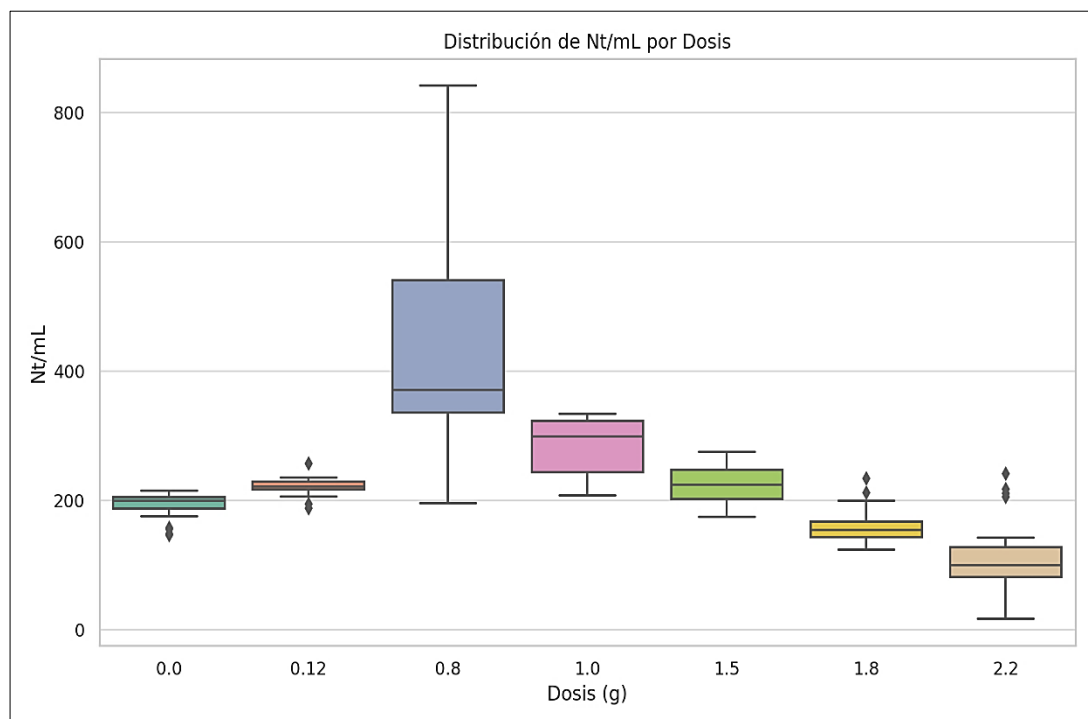
*Resumen de la concentración de hembras ovígeras (NFh/mL) en función de la dosis de harina proteica vegetal*

	<b>DOSIS (g)</b>	<b>N°</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DE</b>	<b>IC95% inf</b>	<b>IC95% sup</b>
<b>1</b>	0,00	28,00	19,96	0,68	18,57	21,35
<b>2</b>	0,12	28,00	20,54	0,86	18,78	22,29
<b>3</b>	0,80	28,00	43,75	3,72	36,12	51,38
<b>4</b>	1,00	28,00	24,04	1,22	21,53	26,54
<b>5</b>	1,50	28,00	14,29	0,53	13,21	15,37
<b>6</b>	1,80	28,00	13,75	0,81	12,08	15,42
<b>7</b>	2,20	28,00	9,50	0,89	7,68	11,32

**Nota.** La dosis que tiene la media más alta, indica una mayor producción de hembras ovígeras, en este caso, la dosis de 0,8 g es la más efectiva.

**Figura 4**

*Gráfico de Caja (Boxplot) de Nt/mL por dosis con la harina proteica vegetal*



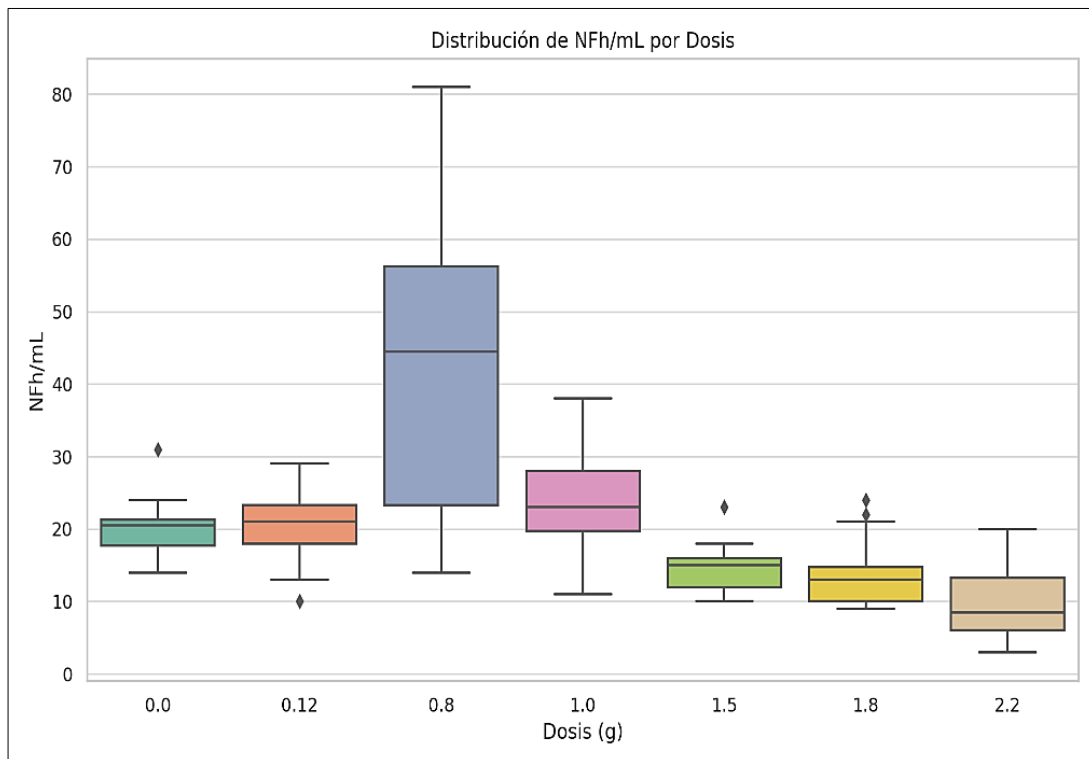
**Nota.** La dosis de 0,8 g muestra la mayor concentración de Nt/mL, mientras que las dosis más altas y bajas presentan mayor variabilidad.

El gráfico de caja muestra la distribución de Nt/mL por dosis. Se observa que la dosis de 0,8 g presenta la mayor concentración de rotíferos, con una mediana más alta y un rango intercuartílico amplio, lo que indica que es la dosis más eficaz para la producción. Las dosis más bajas (como 0,0 y 0,12 g) tienen menor variabilidad,

mientras que las dosis más altas (como 1,5 g, 1,8 g y 2,2 g) muestran una mayor dispersión, sugiriendo que estas dosis tienen una mayor variabilidad en su rendimiento.

### Figura 5

*Gráfico de Caja (Boxplot) de NFh/mL por dosis con la harina proteica vegetal*

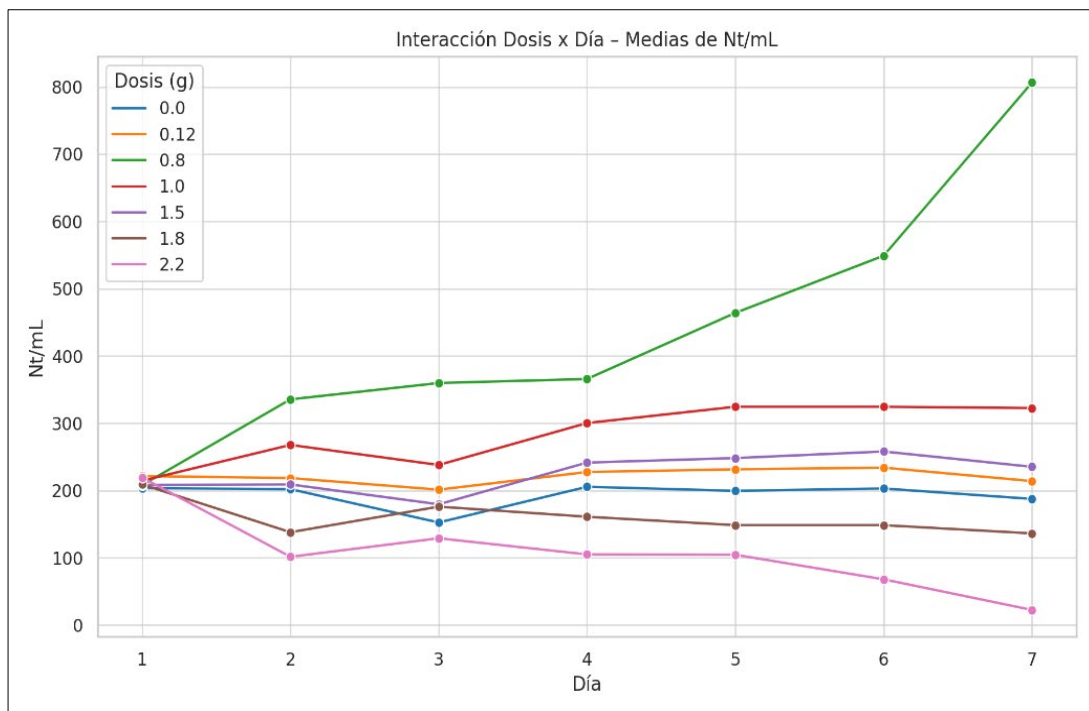


**Nota.** La dosis de 0,8 g muestra la mayor mediana de NFh/mL, indicando la mejor producción de hembras, mientras que las dosis más bajas y altas tienen mayor variabilidad y algunos valores atípicos.

El gráfico muestra la distribución de NFh/mL (producción de hembras ovígeras) por dosis. Se observa que la dosis de 0,8 g tiene la mediana más alta y un rango intercuartílico más amplio, lo que indica que es la dosis más efectiva para promover la producción de hembras ovígeras.

### Figura 6

*Medias de Nt/mL según la interacción dosis por día con la harina proteica vegetal*



**Nota.** El gráfico muestra cómo varían las concentraciones de Nt/mL a lo largo de los días según diferentes dosis. La dosis de 0,8 g presenta un aumento significativo en la producción de rotíferos desde el primer al séptimo día.

### 4.3. Evaluación de la eficiencia del fermento probiótico

**Tabla 16**

*Promedios y ranking por dosis del fermento probiótico*

	DOSIS (g)	Nt/mL MEDIA	NFh/mL MEDIA	Nh/mL MEDIA	POBLACIÓN TOTAL MEDIA	% HHH MEDIA	RANK Nt/mL
1	0	189,46	19,96	19,93	520,01	10,6	6
2	1	215,64	20,54	23,93	595,47	9,50	5
3	3	280,75	35,46	40,96	805,90	12,34	3
4	5	324,57	27,89	31,11	944,11	8,50	2
5	8	482,96	34,64	37,96	1469,48	6,80	1
6	15	223,36	13,57	13,61	610,95	6,34	4
7	17	112,43	9,50	9,61	255,34	11,21	7

**Nota.** La mejor dosis para la producción de Nt/mL es aquella que tiene el ranking más bajo, es decir, la dosis que obtiene el mejor rendimiento en las variables clave. Se utiliza el ranking para ponderar los objetivos de biomasa (Nt), hembras vivas (Nf), hembras oxigénicas y proporción de HHH.

**Tabla 17**

*Tabla completa del resumen de producción (Nt/mL) según dosis del fermento probiótico*

	DOSIS (g)	Nº	MEDIA	DE	VARIANZA	SEM	IC95% inf	IC95% sup	CV %	MÍN	MEDIANA	MÁX
1	0	28	189.46	17.16	294.33	3.24	182,81	196.12	9.06	151	194,5	213
2	1	28	215.64	10.14	102.9	1.92	211,71	219.58	4.7	188	215,5	247
3	3	28	280.75	50.7	2570.19	9.58	261.09	300.41	18.06	196	287,5	357
4	5	28	324.57	72.81	5301.96	13.76	296.34	352.81	22.43	208	325,5	429
5	8	28	482.96	183.18	33554.55	34.62	411.93	553.99	37.93	193	487,5	787
6	15	28	223.36	55.1	3035.5	10.41	201.99	244.72	24.67	124	218,5	325
7	17	28	112.43	70.85	5020.25	13.39	84.95	139.9	63.02	17	97	226

**Nota.** La dosis con mayor media de Nt/mL es 8 g (media  $\approx$  482,96). Para maximizar la concentración de rotíferos por mililitro, esta dosis es la más efectiva en este conjunto de datos.

**Tabla 18**

*Resumen por dosis hembras ovígeras por mililitro del fermento probiótico*

	DOSIS (g)	Nº	MEDIA	DE	IC95% inf	IC95% sup
1	0	28	19,96	3,58	18,57	21,35
2	1	28	20,54	4,53	18,78	22,29
3	3	28	35,46	13,63	30,18	40,75
4	5	28	27,89	9,13	24,35	31,43
5	8	28	34,64	23,68	25,46	43,82
6	15	28	13,57	4,39	11,87	15,27
7	17	28	9,50	4,76	7,65	11,35

**Nota.** Se identificó que las dosis de 5 g y 8 g tienen las mejores medias de producción.

**Tabla 19***Promedios por dosis del fermento probiótico*

	<b>DOSIS (g)</b>	<b>MEDIA Nt/mL</b>	<b>MEDIA % HHH</b>	<b>MEDIA IR</b>	<b>MEDIA POBLACIÓN TOTAL</b>
<b>1</b>	0	189,46	10,60	15,07	520,01
<b>2</b>	1	215,64	9,50	16,02	595,47
<b>3</b>	3	280,75	12,34	24,38	805,90
<b>4</b>	5	324,57	8,50	28,86	944,11
<b>5</b>	8	482,96	6,80	40,80	1469,48
<b>6</b>	15	223,36	6,34	16,18	610,95
<b>7</b>	17	112,43	11,21	-6,31	255,34

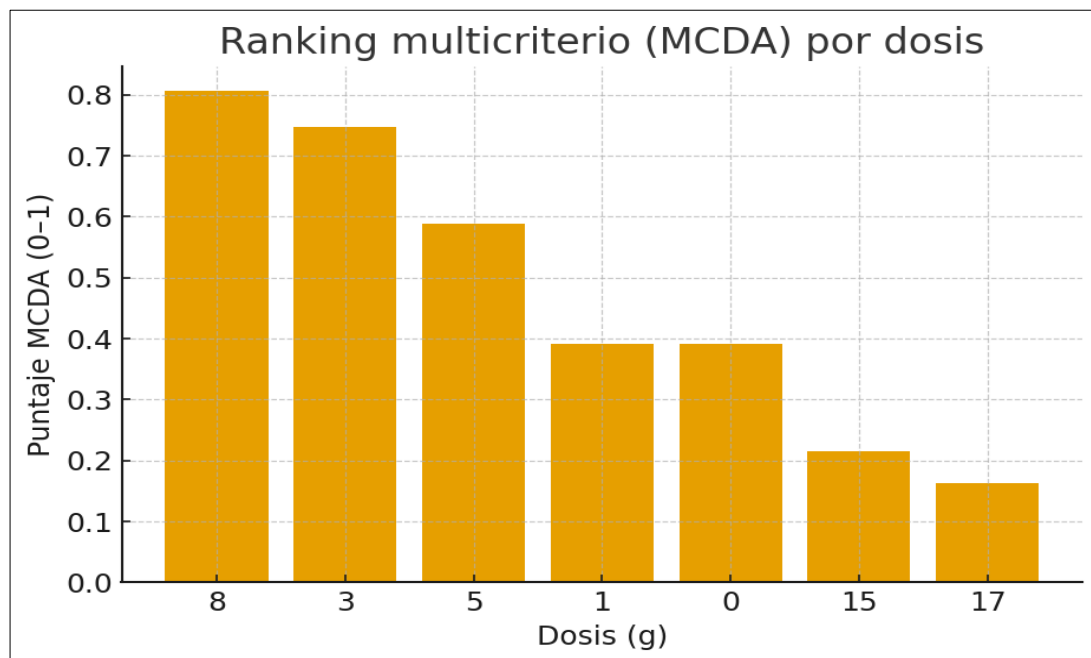
**Tabla 20***Calidad del agua en el cultivo de rotíferos con fermento probiótico*

	<b>DÍAS DE CULTIVO</b>	<b>DOSIS (g)</b>	<b>pH</b>	<b>Amonio (mg/L)</b>	<b>Nitrito (mg/L)</b>	<b>Nitrato (mg/L)</b>
<b>1</b>	1	0	8,5	0,10	0,200	0,5
<b>2</b>	7	1	7,5	0,05	0,100	0,5
<b>3</b>	7	3	7,5	0,05	0,010	0,5
<b>4</b>	7	5	7,5	0,05	0,010	0,5
<b>5</b>	7	8	7,5	0,05	0,025	0,5
<b>6</b>	7	15	8,5	0,05	0,050	1
<b>7</b>	7	17	8,5	0,05	0,100	5

**Nota.** Se evaluó la calidad de agua a través de kits de medición rápida a través de colores y reactivos.

**Tabla 21***Monitorización del pH del fermento probiótico*

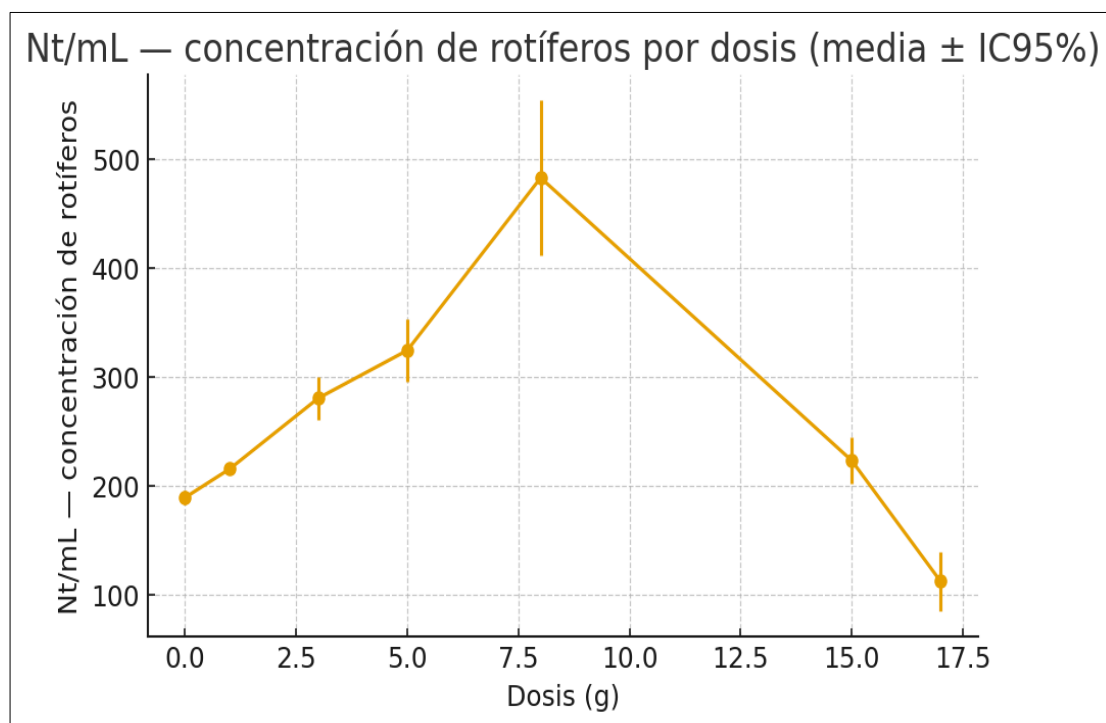
FASE DEL PROCESO	pH
Antes de la Fermentación	7,5 – 8,0
Durante la Fermentación	5,0 – 5,5
Finalización de la Fermentación	4,5 – 4,8

**Figura 7***Ranking multicriterio (MCDA) por dosis del fermento probiótico*

**Nota.** La mejor dosis se observa en 8 g (puntaje  $\approx 0,81$ ).

**Figura 8**

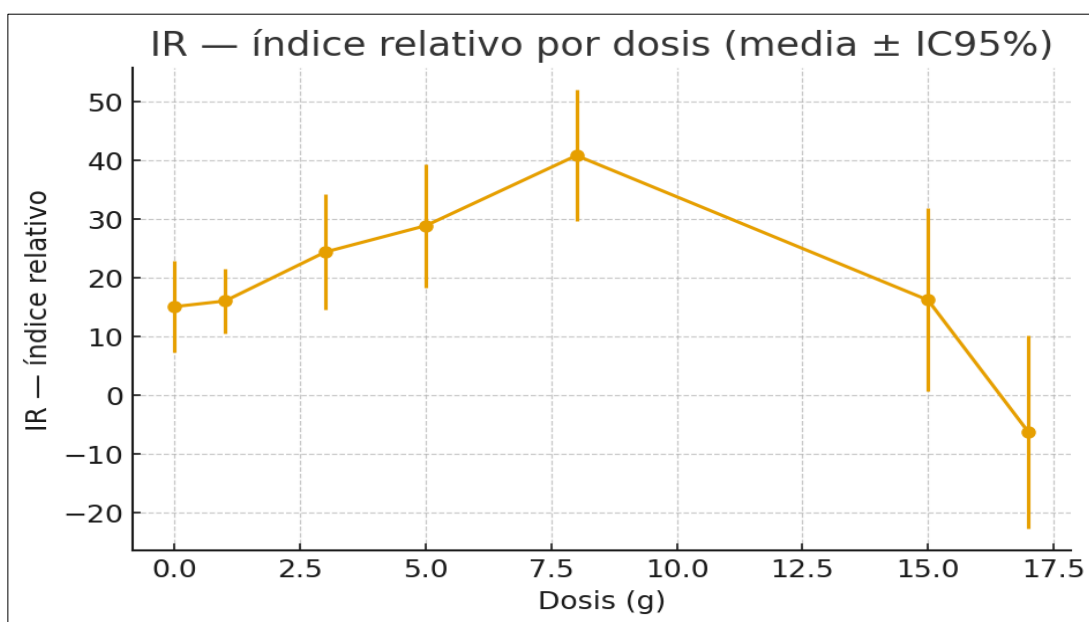
*Concentración de rotíferos por dosis (media  $\pm$  IC95%) con el fermento probiótico*



**Nota.** La dosis con mayor media de Nt/mL es 8 g ( $\approx$  482,96). La separación de los IC95% respecto de otras dosis sugiere mayor precisión cuando los intervalos son más estrechos; solapamientos amplios indican diferencias menos claras.

**Figura 9**

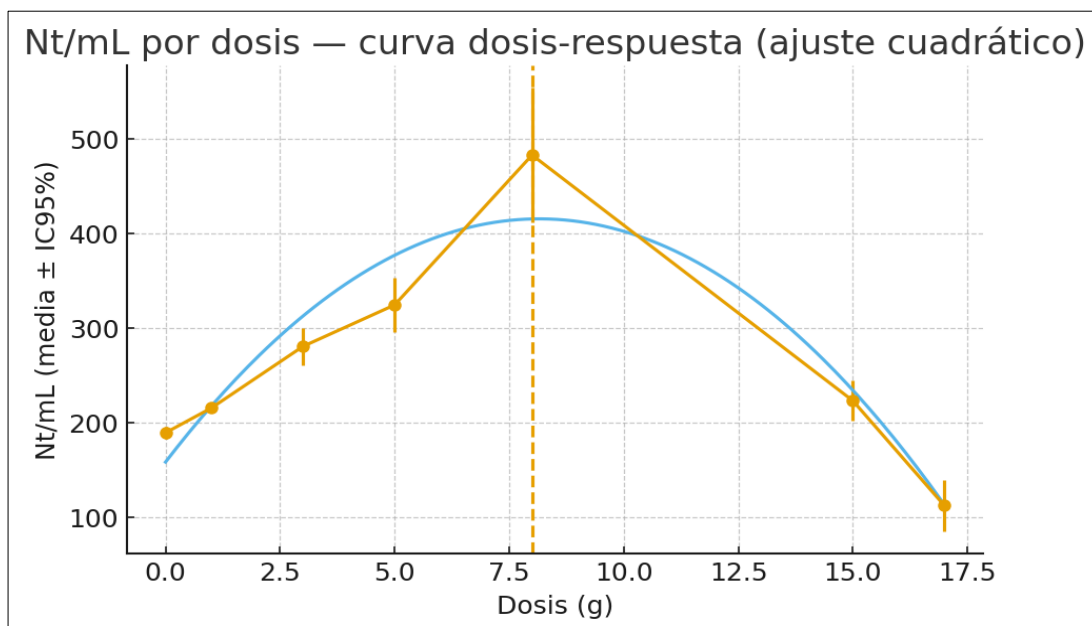
*Índice relativo por dosis (media  $\pm$  IC95%) del fermento probiótico*



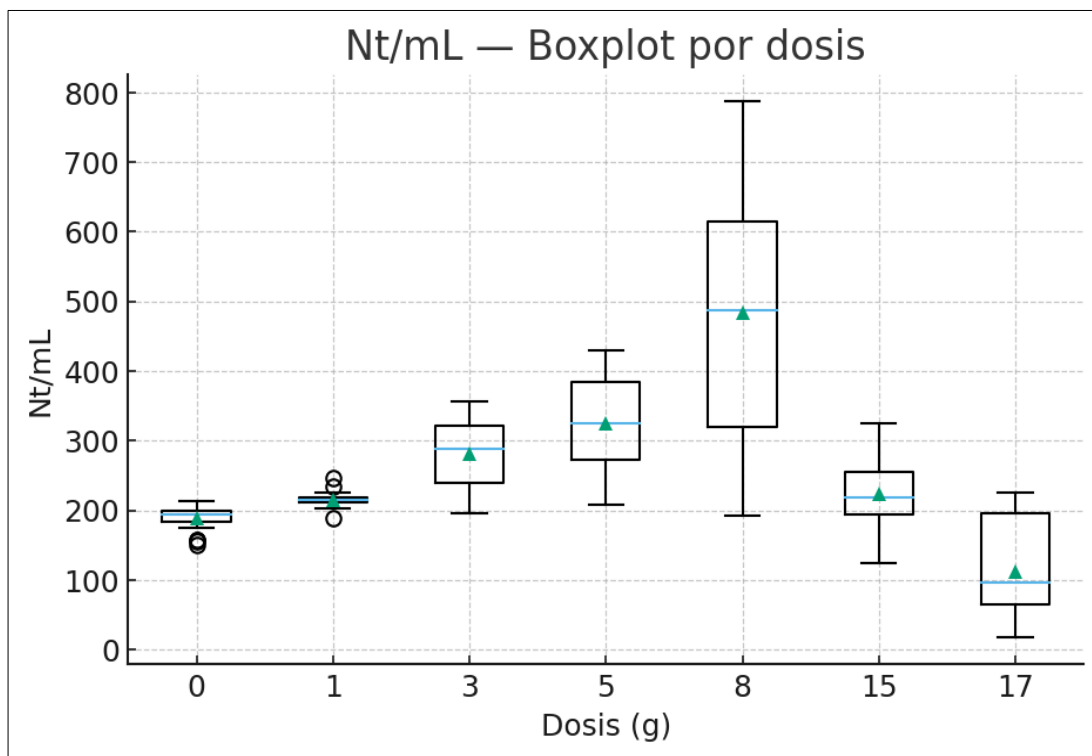
**Nota.** La dosis con mayor media de IR es 8 g ( $\approx$  40,80).

**Figura 10**

*Curva dosis-respuesta del fermento probiótico*



*Nota.* Máxima media observada en 8 g ( $\approx 482,96$ ). El ajuste ilustra la tendencia general; verificar solapamiento de IC95% para decisión.

**Figura 11***Boxplot por dosis del fermento probiótico*

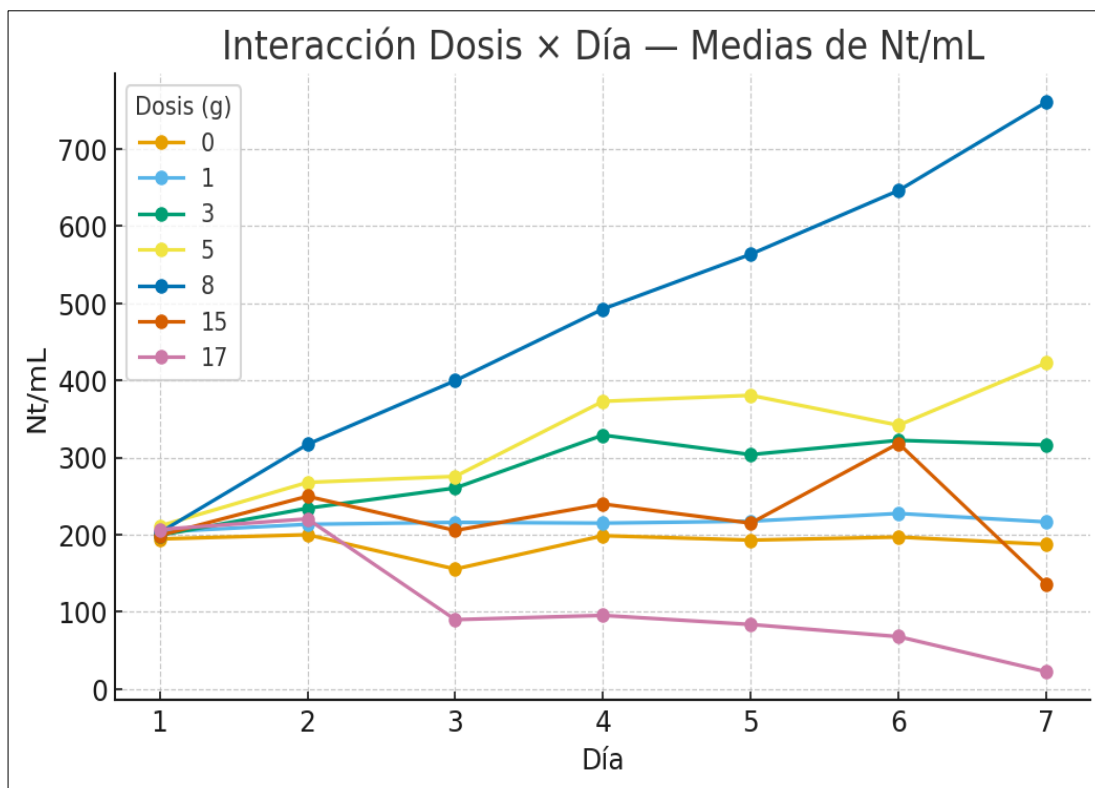
**Nota.** La dosis con mayor mediana de Nt/mL es 8 g ( $\approx 487,50$ ). Las cajas más compactas indican menor variabilidad; valores atípicos (puntos fuera de bigotes) sugieren dispersión adicional.

El boxplot resume la distribución de Nt/mL por dosis: la línea central es la mediana, la caja el IQR (50% central), los bigotes la dispersión y el triángulo la media. Se observa que 8 g alcanza la mediana más alta ( $\approx 487,5$  Nt/mL), señalando el mayor rendimiento, aunque con variabilidad amplia (caja y bigotes grandes). En 15 a 17 g la

mediana disminuye y aparecen outliers, compatibles con sobredosificación o eficiencia decreciente.

**Figura 12**

*Interacción dosis por día de medias de número total de rotíferos por mL con el fermento probiótico*



**Nota.** Cada línea representa la media de Nt/mL por día para cada dosis. En el día 7, la mayor Nt/mL corresponde a 8 g ( $\approx 760,25$ ); promediando los 7 días, la dosis con mayor rendimiento es 8 g (media  $\approx 482,96$ ).

## CONCLUSIONES

### **5.1. Preparación del material biológico y establecimiento de los grupos experimentales:**

La correcta preparación del material biológico y la definición de los grupos experimentales fue crucial para garantizar la validez y replicabilidad del estudio. Los rotíferos de la especie *Brachionus plicatilis* fueron cuidadosamente donados por el laboratorio de hatchery y se sometieron a una esterilización para asegurar que estuvieran libres de contaminantes, especialmente protozoarios del género *Euplotes*, conocidos por interferir en los cultivos. El establecimiento de los grupos experimentales permitió evaluar con precisión los efectos de diferentes dosis del fermento probiótico sobre la densidad poblacional y la calidad del agua, lo cual es esencial para interpretar los resultados obtenidos en los ensayos experimentales.

### **5.2. Selección de adyuvantes del fermento probiótico:**

La identificación y selección de los adyuvantes del fermento fueron fundamentales para potenciar las propiedades del probiótico comercial MICROHATCH. Se seleccionaron compuestos con capacidad para estabilizar la microbiota acuática y aportar nutrientes esenciales al cultivo. Los adyuvantes no solo contribuyeron a la mejora en la calidad del agua, sino

que también favorecieron el desarrollo de una biomasa saludable y robusta de rotíferos, lo que facilitó un ambiente de cultivo más nutritivo y equilibrado. La adición de estos ingredientes mostró un impacto positivo en la tasa de reproducción y la sostenibilidad del cultivo, reduciendo la dependencia de intervenciones manuales.

### **5.3. Determinación de la dosificación del probiótico MICROHATCH:**

El ajuste preciso de la dosificación del probiótico MICROHATCH resultó ser uno de los aspectos más relevantes para determinar la eficacia del tratamiento. Tras varios pre-ensayos, se estableció que una dosificación intermedia (alrededor de 5 g/mL) fue la más efectiva para promover el crecimiento poblacional y la estabilidad del medio de cultivo. Este ajuste permitió optimizar la conversión alimentaria de los rotíferos y mejorar la estabilidad microbiológica del sistema acuático. Las dosis altas no generaron mejoras adicionales, lo que sugiere que las dosis elevadas podrían no ser necesarias, ya que el exceso podría desencadenar efectos adversos en el sistema acuícola.

### **5.4. Establecimiento de la dosis óptima del fermento probiótico:**

La evaluación de diversas dosis del fermento probiótico se determinó que una dosis de 8 g/mL fue la más eficaz para maximizar la biomasa y la

densidad poblacional de los rotíferos. Esta dosis optimizó la calidad del agua al reducir la concentración de amonio y nitrito, elementos tóxicos para los cultivos de rotíferos. Además, la dosis de 8 g/mL no solo incrementó la población de rotíferos, sino que también favoreció un entorno acuático estable, mejorando la tasa de reproducción y reduciendo la mortalidad. Estos resultados evidencian que la correcta dosificación del fermento es esencial para obtener cultivos saludables y productivos.

#### **5.5. Evaluación de las condiciones fisicoquímicas del sistema acuático:**

La calidad del agua es uno de los factores más determinantes en el éxito de los cultivos acuáticos. En este estudio, se observó que la aplicación del fermento probiótico mejoró notablemente las condiciones fisicoquímicas del medio acuático. Los niveles de amonio y nitrito se redujeron significativamente, lo que contribuyó a la mejora del bienestar de los rotíferos y a la reducción de la proliferación de microorganismos patógenos. Además, el pH se mantuvo dentro de los rangos óptimos para el cultivo de rotíferos, lo que indica que el fermento probiótico no solo estabilizó el ambiente acuático, sino que también mejoró la eficiencia de los cultivos. Esto refuerza la idea de que el uso de probióticos puede ser una estrategia efectiva para gestionar la calidad del agua en sistemas acuícolas.

### **5.6. Análisis de la eficiencia del fermento probiótico:**

La aplicación del fermento probiótico resultó en una mejora sustancial en la producción de rotíferos. Se registró un incremento significativo en la densidad poblacional, con una mejora de hasta el 180% en comparación con los cultivos que no recibieron el tratamiento. Además, la tasa de reproducción de las hembras también se incrementó, lo que contribuyó a una mayor producción de semillas para el cultivo. La mayor estabilidad microbiológica observada durante el estudio sugiere que el fermento probiótico ayudó a mantener un equilibrio en la población microbiana del sistema, lo cual es crucial para la sostenibilidad del cultivo. Los resultados obtenidos no solo evidencian los beneficios del fermento en términos de producción y calidad del agua, sino también su potencial para reducir las intervenciones manuales y promover una acuicultura más eficiente y sostenible.

Con el fin de valorar con mayor precisión la eficiencia del fermento probiótico frente a otros productos como la lecitina de soya en la producción de *Brachionus plicatilis*, se realizó una comparación indirecta entre los resultados de la presente tesis y los obtenidos por Deza en su investigación titulada "Efecto de la dieta usando cuatro microalgas marinas y un aditivo con diferentes concentraciones para la producción de rotíferos (*Brachionus*

*plicatilis*) en condiciones de laboratorio" (2025). Ambas investigaciones se desarrollaron en el Centro de Acuicultura Morro Sama (CAMS), bajo condiciones de laboratorio muy similares. En el estudio de Deza, la suplementación con lecitina sobre la dieta microalgal produjo un aumento de alrededor del 50–60 % en la densidad de rotíferos respecto al cultivo control sin aditivo, lo que confirma su efecto positivo sobre el rendimiento. Sin embargo, en la presente investigación, las dosis óptimas del fermento probiótico generaron incrementos cercanos al 170–180 % en comparación con su respectivo control, es decir, aproximadamente el triple del incremento relativo obtenido con la lecitina.

Bajo estas condiciones comparables, puede concluirse que el fermento probiótico constituye una alternativa claramente más eficiente que la lecitina de soya para optimizar la producción intensiva de *Brachionus plicatilis* en el CAMS. Este resultado refuerza la hipótesis de que el uso de probióticos puede representar una opción biotecnológica superior para mejorar la productividad y sostenibilidad en cultivos acuícolas de rotíferos, superando otros aditivos como la lecitina en términos de rendimiento.

## RECOMENDACIONES

### 6.1. Probiótico comercial Microhatch

- Evitar dosis superiores a 1,5 g debido a que afectan negativamente la reproducción y la población total. Se recomienda mantener las dosis dentro del rango óptimo de 0,5 g para asegurar resultados positivos.
- Se recomienda realizar un análisis más detallado sobre el umbral de dosis adecuado. Podría ser útil hacer un estudio de dosis-respuesta en el cual se midan los efectos en la población, la salud y el crecimiento a distintas dosis para encontrar el valor óptimo.
- Monitoreo constante de la salud, dado que la dosis más alta puede ser tóxica, sería prudente implementar un monitoreo constante de la salud de los organismos para ajustar las dosis si se observan signos de estrés o mortalidad elevados.
- Análisis de los efectos a largo plazo, por lo que se podría hacer un seguimiento a largo plazo para observar cómo evolucionan los efectos de las dosis aplicadas en la salud de los organismos.

## **6.2. Harina proteica vegetal**

- Las dosis de 0,0 g y 2,2 g presentan un rendimiento inferior y, en el caso de la dosis más alta, incluso efectos negativos. Se recomienda evitar el uso de dosis demasiado bajas o altas, ya que no son eficientes y pueden generar variabilidad en los resultados, lo que dificulta el control de la producción.
- Monitoreo continuo del impacto del IR, dado que el IR negativo en dosis altas indica un impacto negativo, es crucial monitorear de cerca cómo las dosis mayores afectan la salud y el crecimiento de los rotíferos. De ser necesario, se debe ajustar la alimentación o el ambiente para minimizar estos efectos adversos.

## **6.3. Fermento probiótico**

- Siempre se recomienda usar 8 g para maximizar biomasa (Nt/mL) y optar por 5 g cuando se priorice estabilidad (CV% bajo).
- Se propone afinar el óptimo explorando 5–9 g y ajustar una curva dosis-respuesta no lineal para estimar ED50/ED95.

## REFERENCIAS

- Ahmed, A. R., et al. (2021). *Efecto de la inclusión de un probiótico comercial en la dieta de Tilapia del Nilo (Oreochromis niloticus) en acuicultura*. Revista de Acuicultura y Nutrición Acuática, 34(5), 78–86.
- Balcázar, J. L. (2002). *Evaluación de mezclas de cepas probióticas en juveniles de Litopenaeus vannamei*. Revista de Acuicultura, 22(3), 123–130.
- Boyd, C. E. (1990). *Water quality in ponds for aquaculture*. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University. <https://www.worldcat.org/title/water-quality-in-ponds-for-aquaculture/oclc/20919667>.
- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (2014). *Pond aquaculture water quality management*. Springer.
- Campaña-Córdova, Á., González-Rodríguez, B., & Hernández-Llamas, A. (2023). *Intensive rotifer production systems: Recent advances and future perspectives*. *Aquaculture Reports*, 30, 101592. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101592>.
- Castro, J., et al. (2022). *Evaluación del uso de probióticos en la alimentación de camarones Litopenaeus vannamei en Perú: Una alternativa a los tratamientos antimicrobianos*. Revista de Acuicultura Sostenible, 18(4), 134–142.
- Chopin, T. (2023). *Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA): An aquatic farming approach whose time has come*. *Reviews in Aquaculture*, 15(1), 1–15. <https://doi.org/10.1111/raq.12731>.

- Conceição, L. E., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S., & Dinis, M. T. (2020). *Live feeds for early stages of fish rearing*. *Aquaculture Research*, 51(1), 1–41. <https://doi.org/10.1111/are.14363>.
- Dhert, P., Rombaut, G., Suantika, G., & Sorgeloos, P. (2020). *Advancement in rotifer culture and manipulation techniques*. *Reviews in Aquaculture*, 12(1), 252–277. <https://doi.org/10.1111/raq.12315>.
- Dhont, J., Dierckens, K., Støttrup, J., Van Stappen, G., Wille, M., & Sorgeloos, P. (2013). *Rotifers, Artemia and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture*. In *Advances in Aquaculture Hatchery Technology* (pp. 157–202). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857097460.1.157>.
- Drillet, G., Frouël, S., Sichlau, M. H., Jepsen, P. M., Højgaard, J. K., & Nielsen, T. G. (2021). *Status and recommendations on marine copepod cultivation for use as live feed*. *Aquaculture*, 531, 735310. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735310>.
- FAO. (2022). *The state of world fisheries and aquaculture 2022: Towards blue transformation*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4060/cc0461>.
- Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero [FONDEPES]. (2023). *¿Quiénes somos?* <https://www.gob.pe/fondepes>.
- Gänzle, M. G. (2015). *Lactic acid bacteria in fermented foods: Probiotics and fermentation*. In *Probiotics and Prebiotics in Food, Health and Disease* (pp. 31–45). Springer.

- Gómez, R., et al. (2022). *Bomba de fermento para la maduración del agua en acuicultura simbiótica*. *Revista de Biotecnología y Acuicultura Sostenible*, 19(3), 112–119.
- Hasan, K. N., & Banerjee, G. (2020). *Recent studies on probiotics in aquaculture: A review*. *Aquaculture Reports*, 17, 100327. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100327>.
- Hagiwara, A., Gallardo, W. G., Assavaaree, M., Kotani, T., & de Araujo, A. B. (2021). *Live food production in Japan: Recent progress and future aspects*. *Aquaculture*, 531, 735894. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735894>.
- López-Lucero, E. A., Barreto-Curiel, F., Galaviz, M. A., Segovia, J. C., & Jaramontañez, R. (2022). *Efecto del enriquecimiento de alimento vivo en el perfil aminoacídico y lipídico de rotíferos (Brachionus plicatilis)*. *Acta Pesquera*, 8(16), 43–56. <https://revistas.cimateuan.education/index.php/aprevista/article/view/14>.
- Martínez-Córdova, L. R., Martínez-Porchas, M., & Martínez-Córdova, M. (2022). *Advances and perspectives in integrated multi-trophic aquaculture*. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1197343. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1197343>.
- Mendoza, R., et al. (2023). *Impacto de los probióticos en la salud y crecimiento de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss) en Arequipa, Perú: Enfrentando desafíos en acuicultura intensiva*. *Revista de Acuicultura y Biotecnología*, 26(1), 45–53.
- Moriarty, D. J. W. (1997). *The role of microorganisms in the culture of penaeid shrimp*. *Aquaculture*, 155(1–4), 1–17.

- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Buschmann, A. H., Bush, S. R., Cao, L., Klinger, D. H., & Troell, M. (2021). *A 20-year retrospective review of global aquaculture*. *Nature*, *591*(7851), 551–563. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03308-6>.
- Ohs, C. L., Luthy, K. A., & Cassiano, E. J. (2022). *Copepods as live prey: A review of factors that influence the feeding success of marine fish larvae*. *Aquaculture*, *547*, 737476. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737476>.
- Støttrup, J. G., & McEvoy, L. A. (2003). *Live feeds in marine aquaculture*. Blackwell Science. <https://doi.org/10.1002/9780470996387>.
- Timmons, M. B., & Ebeling, J. M. (2013). *Recirculating aquaculture* (2nd ed.). Cayuga Aqua Ventures.
- Troell, M., Joyce, A., Chopin, T., Neori, A., Buschmann, A. H., & Fang, J. G. (2014). *Ecological engineering in aquaculture: Potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems*. *Aquaculture*, *418–419*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.003>.
- Van Stappen, G., Sui, L., Hoa, V., & Sorgeloos, P. (2020). *Review on integrated production of the brine shrimp Artemia in solar salt ponds*. *Reviews in Aquaculture*, *12*(2), 1054–1071. <https://doi.org/10.1111/raq.12371>.

## ANEXOS

Figura 15

*Manejo de especies del Centro de acuicultura Morro Sama*



**Nota.** Fotografía tomada en el pabellón de engorde.

**Figura 16**

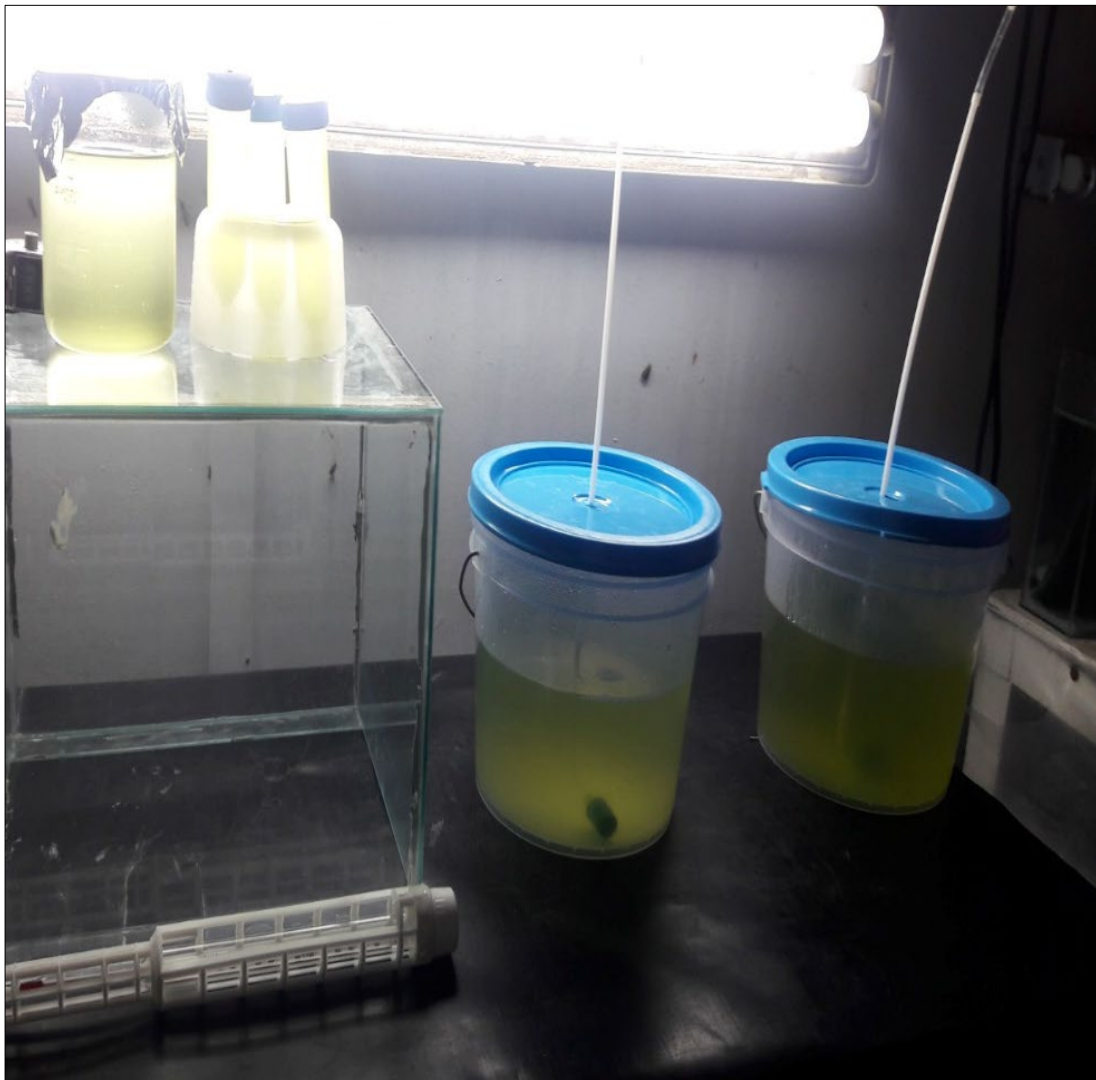
*Conservación de cepas de rotíferos Brachionus plicatilis*



*Nota.* Fotografía tomada en el laboratorio de alimento vivo.

**Figura 17**

*Cultivo inicial de rotíferos *Brachionus plicatilis**



*Nota.* Fotografía tomada en el laboratorio de alimento vivo.

**Figura 18**

*Tanque de cultivo masivo de rotíferos Brachionus plicatilis del Centro de acuicultura Morro Sama*



**Nota.** Fotografía tomada en el laboratorio de alimento vivo.

**Figura 19**

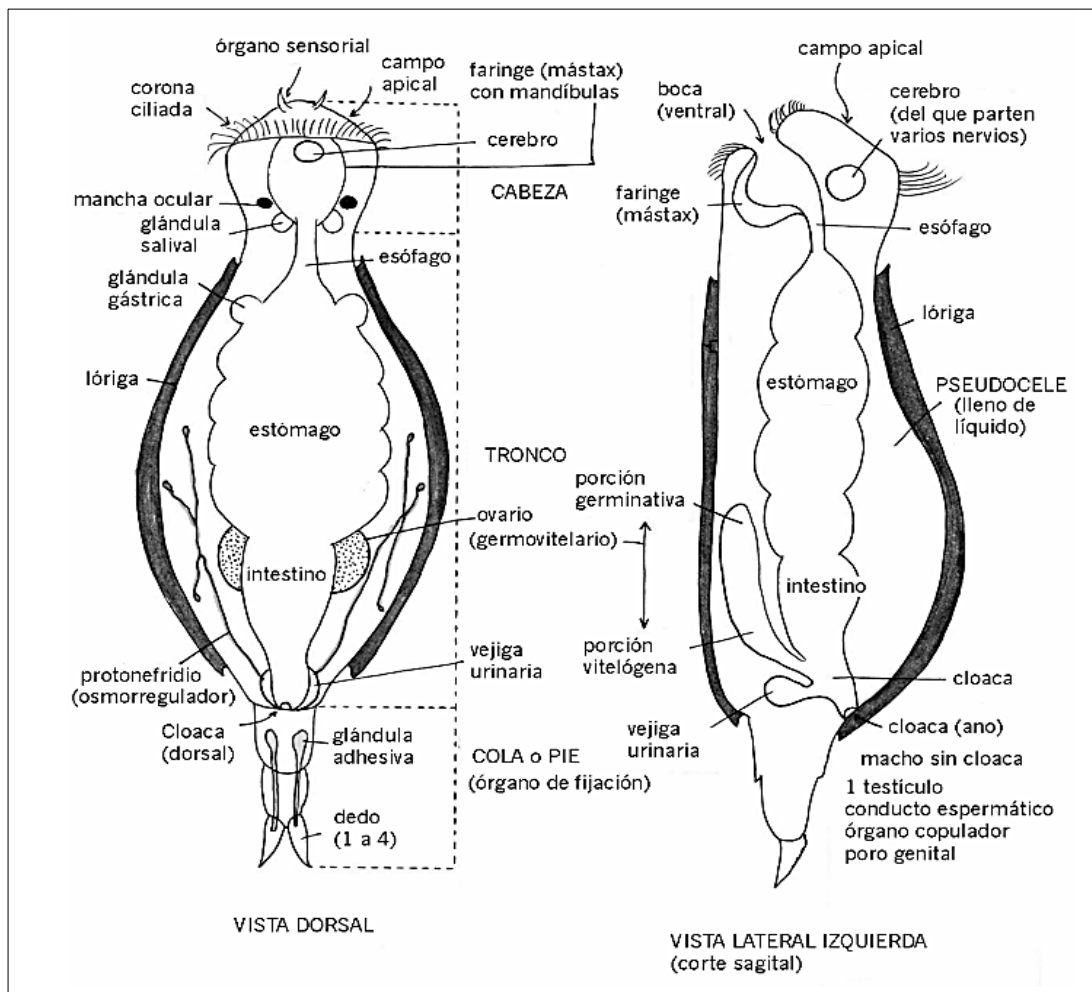
*Adición de levadura al cultivo masivo de rotifero*



*Nota.* Fotografía tomada en el laboratorio de alimento vivo.

**Figura 20**

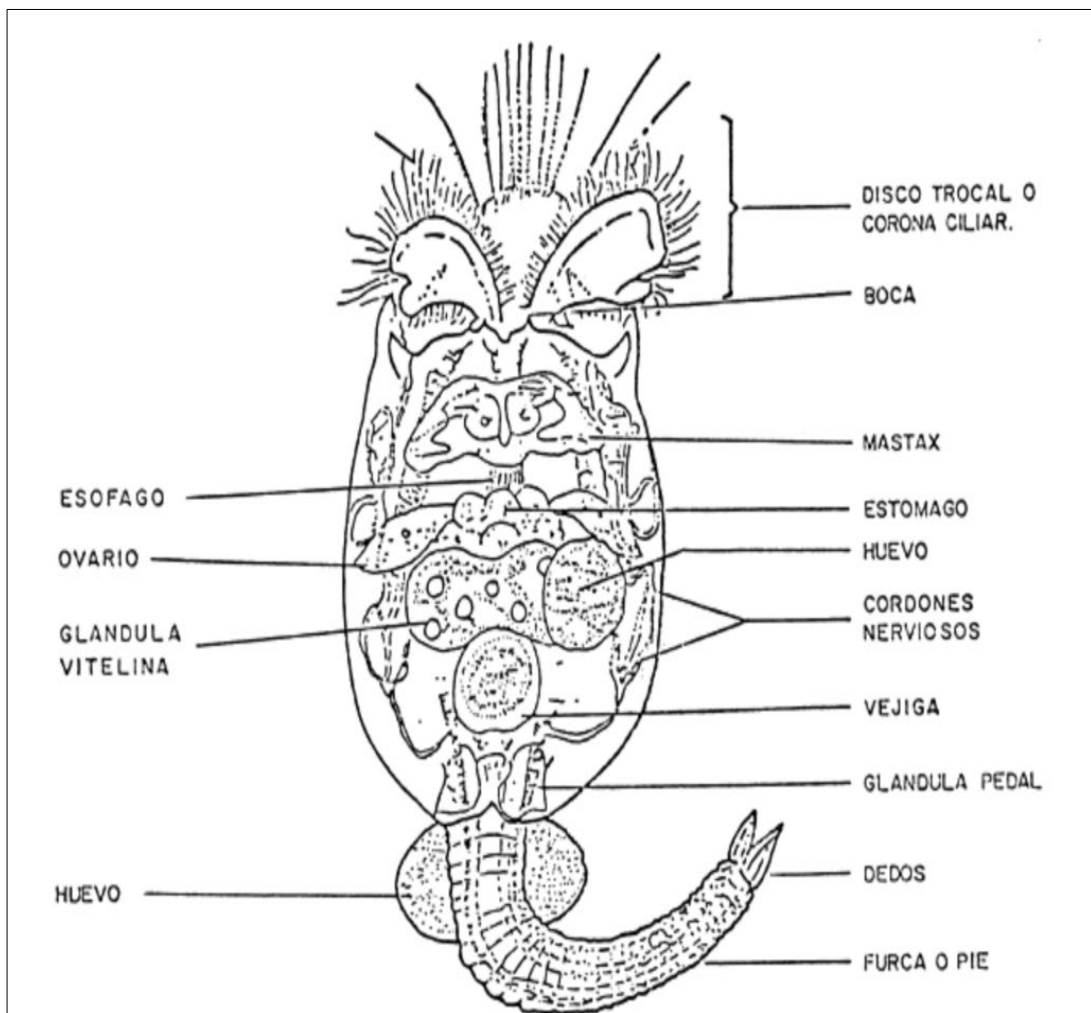
*Morfología interna y externa del Phylum rotífera*



*Nota.* Fuente: Ana G. Moreno, UCM, 2013.

**Figura 21**

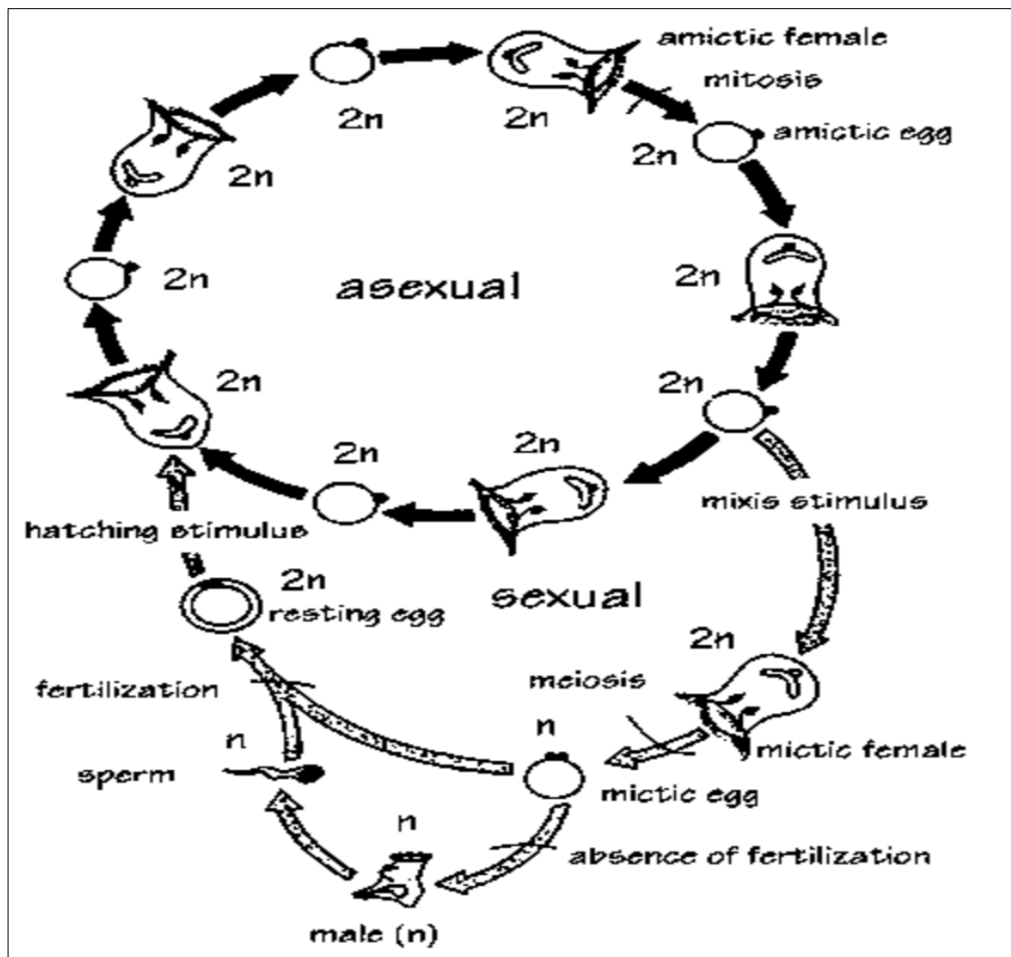
*Anatomía de Brachionus plicatilis*



*Nota.* B. Pejler et al., 1983.

Figura 22

La reproducción partenogenética y sexual en *Brachionus plicatilis*



Nota. Imagen modificada por Hoff y Snell, 1987.

**Figura 23**

*Aislamiento de rotíferos del cultivo masivo*



**Nota.** Extracción por sifonado de rotíferos desde el tanque de cultivo masivo y traslado al contenedor de recolección para donación.

**Figura 24**

*Entrega de donación de rotíferos*



**Nota.** Foto tomada en el laboratorio de cultivo de rotíferos, mostrando el proceso de entrega.

**Figura 25**

*Diseño técnico funcional del balde de cultivo*

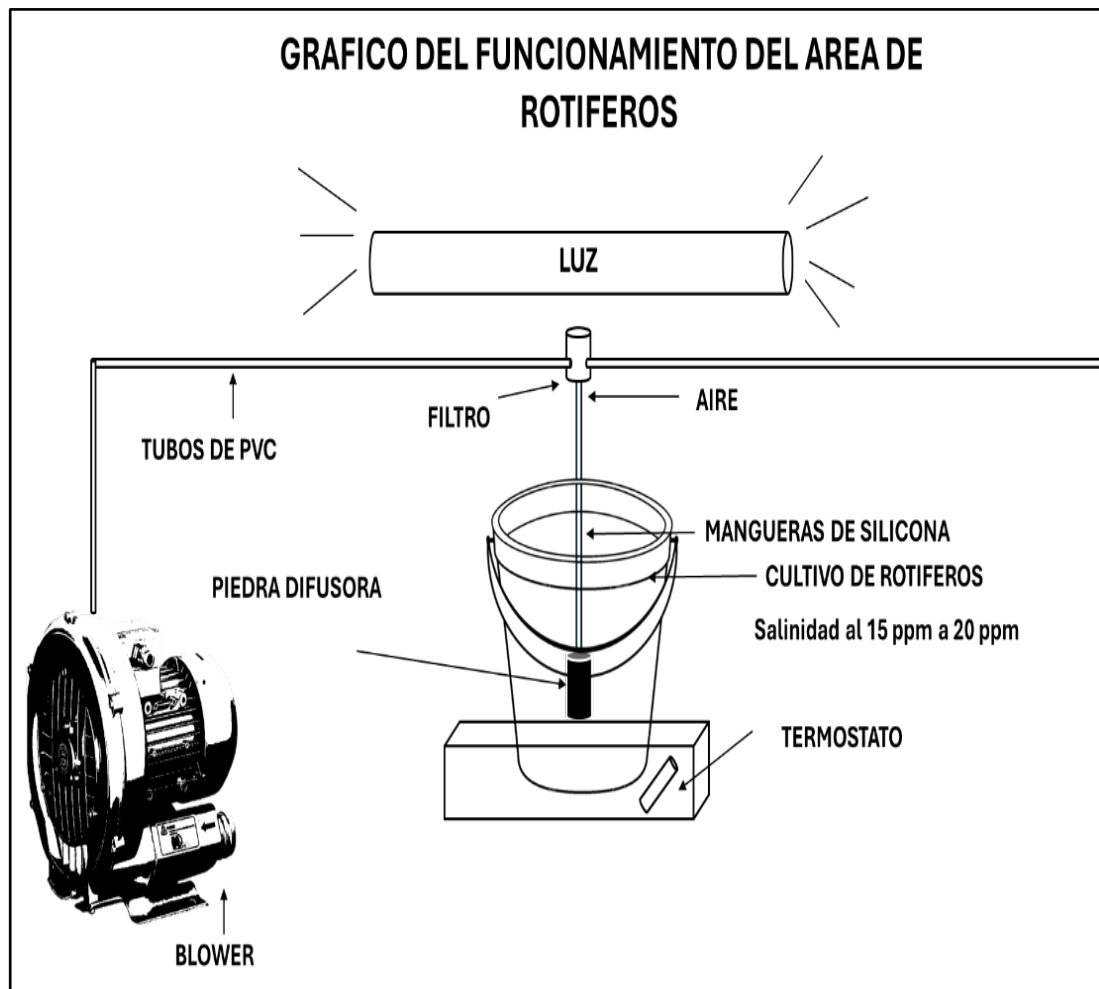


Figura 26

*Flujograma de metodología de elaboración del fermento probiótico*



**Figura 27**

*Montaje experimental del ensayo*



**Nota.** Los tratamientos se ejecutaron en recipientes plásticos ubicados dentro de un tanque común, cada uno con línea de aire independiente para asegurar mezcla y oxigenación homogénea. A la derecha se aprecia el frasco con el alimento/inóculo del cultivo. El arreglo buscó estandarizar condiciones físicas entre tratamientos y reducir efectos de borde.

**Figura 28**

*Kits colorimétricos (JBL ProAquaTest) para monitoreo de pH, nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ )*



*Nota.* Se utilizaron las pruebas pH 3–10 (muestra 5 mL, 5 min),  $\text{NO}_2^-$  (muestra 5 mL, 5 min) y  $\text{NO}_3^-$  (muestra 10 mL, 10 min), siguiendo el protocolo del fabricante y leyendo por comparación con la carta de colores para las muestras de los recipientes del ensayo.

**Figura 29**

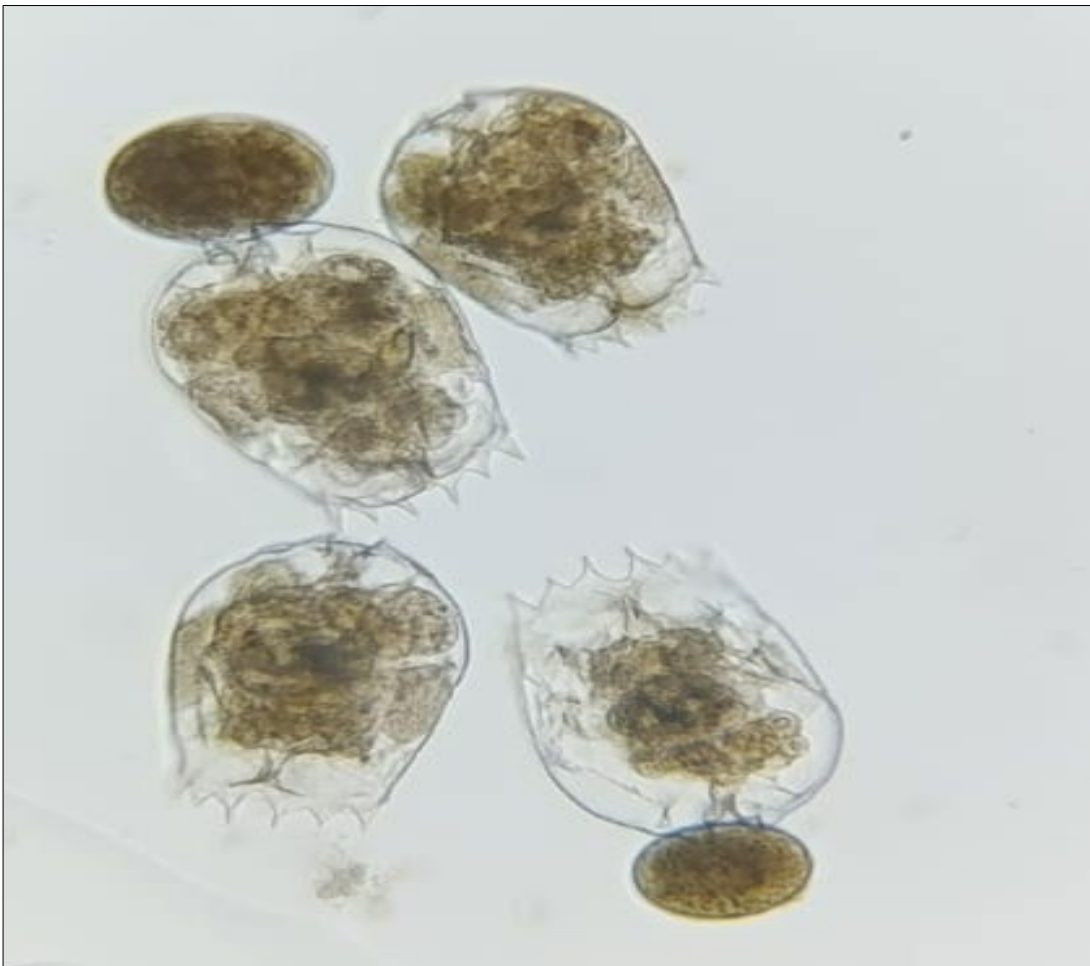
*Preparación de muestras de rotíferos para análisis de comportamiento (tomas secuenciales)*



**Nota.** Viales etiquetados por toma y réplica, dispuestos en banco de trabajo para evaluar actividad natatoria, distribución en la columna de agua y respuesta a estímulos. Las alícuotas se homogeneizaron con pipetas y se mantuvieron bajo condiciones controladas (volumen, temperatura e iluminación) hasta el registro en la hoja de datos.

**Figura 30**

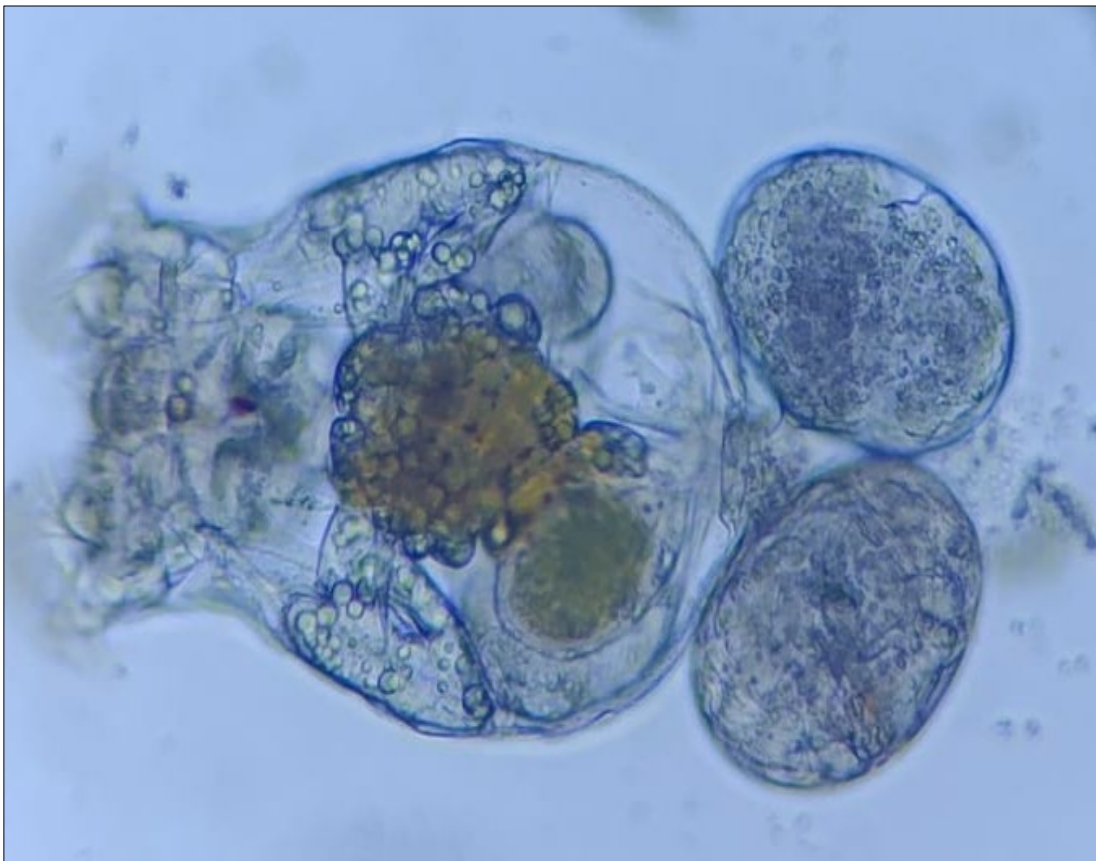
*Muestra de rotíferos del ensayo de evaluación del Microhatch*



**Nota.** Se observaron rotíferos con huevos fecundados, mediante microscopio a 40X de aumento, sin fijación (Lugol), y se fotografió la muestra en su estado fresco.

**Figura 31**

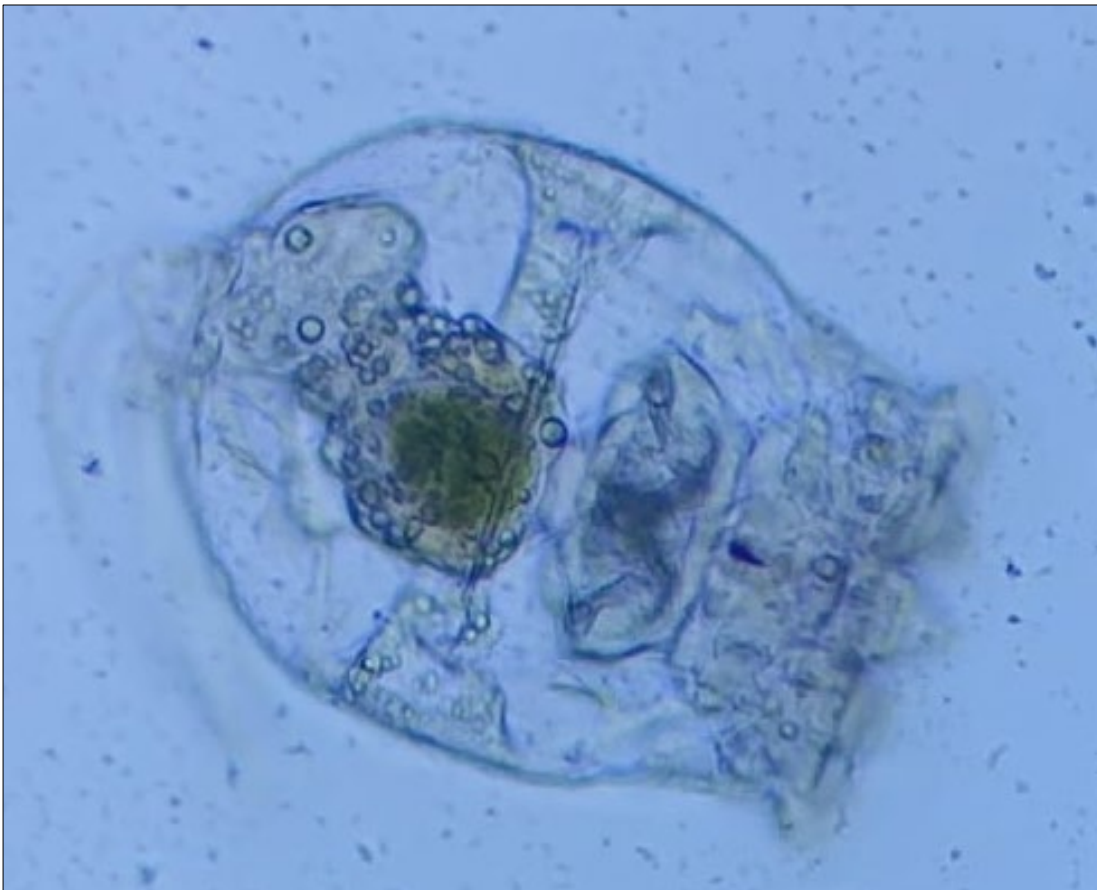
*Rotífero con doble huevo del cultivo de harina proteica vegetal*



**Nota.** Se observaron rotíferos con huevos fecundados, predominando los individuos con hembras ovígeras que presentaban múltiples huevos. La observación se realizó mediante microscopio a 40X de aumento, sin fijación (Lugol), y se fotografió la muestra en su estado fresco.

**Figura 32**

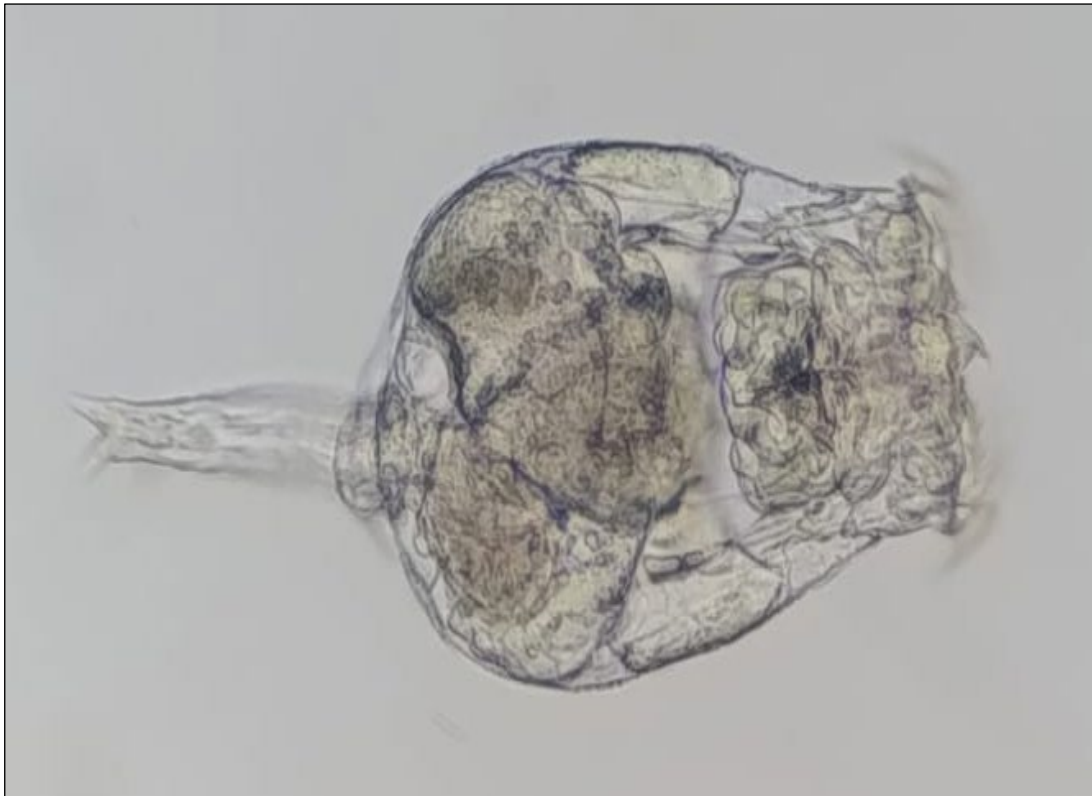
*Rotífero del ensayo de harina proteica vegetal*



**Nota.** La figura muestra un rotífero observado en el ensayo con harina proteica vegetal. La imagen fue capturada bajo el microscopio a un aumento de 40X, evidenciando la estructura del rotífero, incluyendo su cuerpo y contenido interno.

**Figura 33**

*Muestra de rotífero de los pre -ensayos de levadura*



**Nota.** La figura muestra un rotífero observado durante los pre-ensayos con levadura, capturado a través de un microscopio a un aumento adecuado. En la imagen se pueden observar claramente las estructuras del rotífero, destacando la presencia de huevos fecundados y la disposición interna de su cuerpo. Esta muestra fue tomada en su estado fresco, sin fijación, permitiendo una visión detallada de su morfología y su posible interacción con el medio de cultivo a base de levadura.

**Figura 34**

*Preparación aséptica del fermento probiótico: adición del inóculo bajo llama de Bunsen*



**Nota.** El operador dosifica el probiótico en polvo hacia un matraz con medio esterilizado, utilizando llama de Bunsen para generar una zona de aire ascendente que reduce la contaminación. Se trabaja con guantes y superficies desinfectadas con alcohol al 70% para mantener la asepsia durante la transferencia.

**Figura 35**

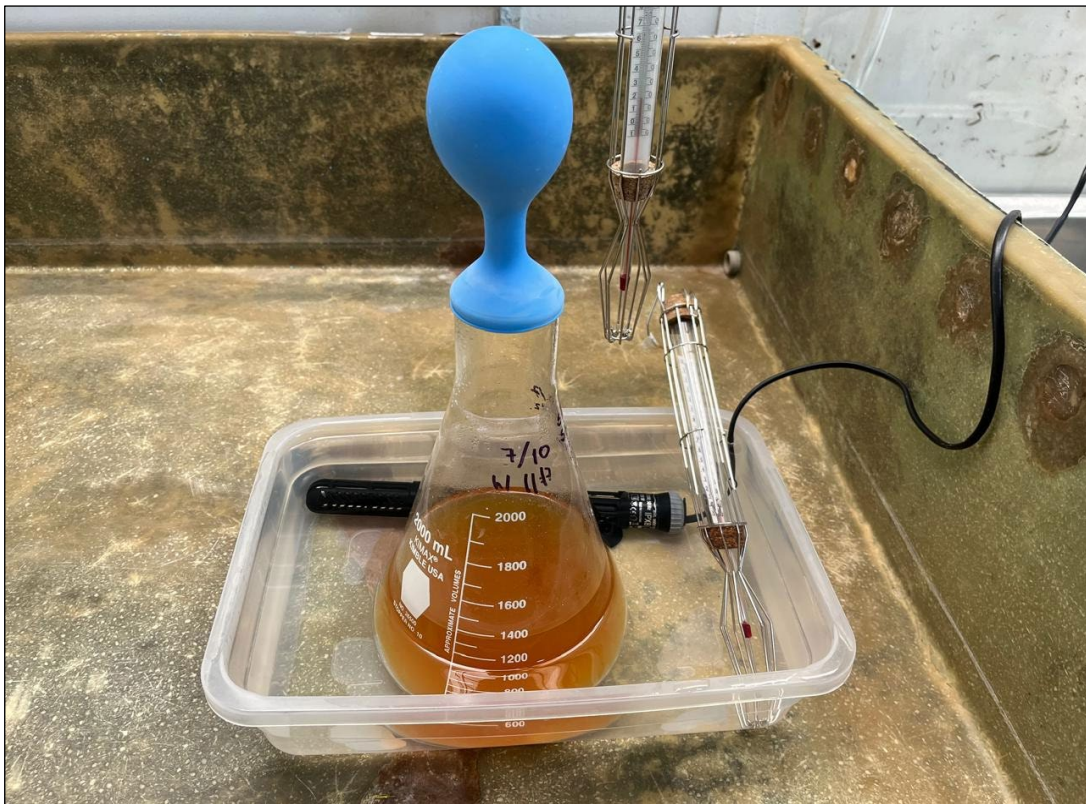
*Activación del fermento en agitación y temperatura controlada*



**Nota.** Matraz Erlenmeyer de 2 L sobre placa calefactora con agitación magnética para homogeneizar el medio e impulsar la oxigenación; el cuello se sella (film/tapa) para minimizar contaminación. La agitación y el calor se ajustan según protocolo hasta completar la activación del probiótico.

**Figura 36**

*Incubación del fermento en baño térmico con control ambiental*



**Nota.** El matraz con el fermento se mantiene en baño María dentro de una bandeja con calentador y termómetros para sostener la temperatura objetivo; el bulbo de goma actúa como trampa de aire/filtro, permitiendo intercambio gaseoso y reduciendo la contaminación. Este montaje estabiliza la activación y crecimiento del probiótico antes de su uso en el cultivo de rotíferos.

**Figura 37**

*Sellado y rotulado aséptico del matraz con fermento*



**Nota.** En mesa estéril y bajo llama de Bunsen, se sella el matraz Erlenmeyer (2 L) con papel aluminio/parafilm y se rotula (fecha, hora, lote y condiciones). La llama crea corriente ascendente que disminuye la contaminación; el rotulado asegura trazabilidad del preparado durante la activación y uso.

**Figura 38**

*Almacenamiento refrigerado del fermento probiótico*



**Nota.** El matraz se conserva en refrigeración ( $\approx 4 \pm 1$  °C), sellado y rotulado (fecha/lote) para mantener la viabilidad hasta su uso. Mantenerlo protegido de la luz, evitar aperturas frecuentes, no someter a congelación/descongelación y manipular siempre con guantes; almacenar separado de alimentos o reactivos volátiles para minimizar contaminación.