



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

Efecto de la lenteja de agua (*Lemna minor*) fermentada sobre la reducción de bacterias totales en la tilapia (*Oreochromis sp.*)

**CUENCA ULLAGUARI MABEL ANDREA
INGENIERA ACUICOLA**

**ONTANEDA APOLO MARCOS GEOVANNY
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA
2024**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

**Efecto de la lenteja de agua (*Lemna minor*) fermentada sobre la
reducción de bacterias totales en la tilapia (*Oreochromis sp.*)**

**CUENCA ULLAGUARI MABEL ANDREA
INGENIERA ACUICOLA**

**ONTANEDA APOLO MARCOS GEOVANNY
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA
2024**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

**Efecto de la lenteja de agua (Lemna minor) fermentada sobre la
reducción de bacterias totales en la tilapia (Oreochromis sp.)**

**CUENCA ULLAGUARI MABEL ANDREA
INGENIERA ACUICOLA**

**ONTANEDA APOLO MARCOS GEOVANNY
INGENIERO ACUICOLA**

SORROZA OCHOA LITA SCARLETT

**MACHALA
2024**

Tesis - Lemna minor

por Mabel Cuenca Ullaguari

Fecha de entrega: 05-ago-2024 12:20p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2427705109

Nombre del archivo: Tesis_-_fermentos_Lemna_minor.pdf (1.02M)

Total de palabras: 9127

Total de caracteres: 48439

Tesis - Lemna minor

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.researchgate.net Fuente de Internet	1%
2	es.scribd.com Fuente de Internet	<1%
3	Yuniel Méndez, Yenny Torres, Yilian Pérez, Misleidi Romás, Edilmar Cortés. "Effect of duckweed meal dietary inclusion on growth performance and survival of African catfish fingerlings", Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, 2020 Publicación	<1%
4	www.avocadosource.com Fuente de Internet	<1%
5	docplayer.es Fuente de Internet	<1%
6	Submitted to Universidad Politecnica Salesiana del Ecuador Trabajo del estudiante	<1%
7	scielo.senescyt.gob.ec Fuente de Internet	

<1 %

8

www.aquahoy.com

Fuente de Internet

<1 %

9

worldwidescience.org

Fuente de Internet

<1 %

10

jeraus.info

Fuente de Internet

<1 %

11

repositorio.unal.edu.co

Fuente de Internet

<1 %

12

search.scielo.org

Fuente de Internet

<1 %

13

Revista Temas Agrarios. "Proceedings - 2nd International and 3rd National Symposium in Agronomic Sciences", Temas Agrarios, 2022

Publicación

<1 %

14

www.lajar.cl

Fuente de Internet

<1 %

15

hdl.handle.net

Fuente de Internet

<1 %

16

www.slideshare.net

Fuente de Internet

<1 %

17

doaj.org

Fuente de Internet

<1 %

18	tesis.unsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
19	profesionales.optifast.es Fuente de Internet	<1 %
20	Raquel Monge Ortiz. "Efecto de la sustitución de la harina y el aceite de pescado por fuentes vegetales y animales en la alimentación de la seriola (Seriola dumerili. Risso, 1810)", Universitat Politecnica de Valencia, 2020 Publicación	<1 %
21	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
22	repositorio.cinvestav.mx Fuente de Internet	<1 %
23	www.repositorio.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1 %
24	"Characterization of texture and flavor compounds of selected Chilean seaweed", Pontificia Universidad Catolica de Chile, 2023 Publicación	<1 %
25	Ramón Tejada Oliveros. "Optimización de las propiedades de tenacidad e impacto de formulaciones de ácido poliláctico (PLA), mediante mezclas con polímeros flexibles y optimización de los sistemas de	<1 %

compatibilización", Universitat Politecnica de Valencia, 2023

Publicación

26

es.patents.com

Fuente de Internet

<1 %

27

revistas.unap.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

28

www.americasalud.com.uy

Fuente de Internet

<1 %

29

www.innovabiobio.cl

Fuente de Internet

<1 %

30

www.mef.gob.pe

Fuente de Internet

<1 %

31

www.scielo.org.mx

Fuente de Internet

<1 %

32

"Evaluación de varias fuentes de proteína vegetal en dietas para camarón *Litopenaeus vannamei*", 'Universitat Politecnica de Valencia'

Fuente de Internet

<1 %

33

Aroldo Botello-León, Yuniel Méndez-Martínez, Kirenia Pérez-Corría, Marcos Ortega-Ojeda et al. "Caracterización de lenteja y jacinto de agua, efecto en la digestibilidad aparente en la tilapia", Revista MVZ Córdoba, 2024

Publicación

<1 %

34

Claudia Isabel Bas Bellver. "Desarrollo del proceso de obtención de polvos funcionales de uso alimentario a partir de residuos de las líneas de confección de hortalizas, caracterización funcional y evaluación de su respuesta a la digestión simulada in vitro", Universitat Politecnica de Valencia, 2023

Publicación

<1 %

35

Ilhami Gulcin, Ahmet Zafer Tel, Ekrem Kirecci. " Antioxidant, Antimicrobial, Antifungal, and Antiradical Activities of (BOISS.) Manden and Scheng ", International Journal of Food Properties, 2008

Publicación

<1 %

36

Janaina Sánchez García. "Desarrollo y caracterización de nuevas harinas de lenteja y quinoa fermentadas con *Pleurotus ostreatus*", Universitat Politecnica de Valencia, 2023

Publicación

<1 %

37

Patricio Dantagnan, Aliro Bórquez, Claudia Pavez, Adrián Hernández. "Feeding ω -3 PUFA enriched rotifers to *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) larvae reared at different salinity conditions: effects on growth parameters, survival and fatty acids profile", Latin American Journal of Aquatic Research, 2016

Publicación

<1 %

38	repositorio.espe.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
39	repositorio.unsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
40	www.estrucplan.com.ar Fuente de Internet	<1 %
41	www.mapa.es Fuente de Internet	<1 %
42	zaguan.unizar.es Fuente de Internet	<1 %
43	pdacrsp.oregonstate.edu Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Activo

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

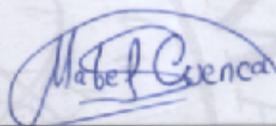
Los que suscriben, CUENCA ULLAGUARI MABEL ANDREA y ONTANEDA APOLO MARCOS GEOVANNY, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Efecto de la lenteja de agua (*Lemna minor*) fermentada sobre la reducción de bacterias totales en la tilapia (*Oreochromis sp.*), otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



CUENCA ULLAGUARI MABEL ANDREA

0750112401



ONTANEDA APOLO MARCOS GEOVANNY

0705966521

DEDICATORIA

Dedico mi tesis a mis padres Daniel Cuenca y Luz Ullaguari por brindarme su amor y apoyo incondicional en cada etapa de mi vida. A mis hermanos por su apoyo constante, y sus consejos alentadores que me han impulsado a seguir adelante. Gracias por ser una fuente de inspiración para mi formación personal y profesional.

A mis queridas sobrinas, Nora y Lesly, quienes dejaron una huella imborrable en nuestras vidas. Esta tesis dedicada a ustedes, en honor a la luz y el amor que trajeron, aunque fuera por poco tiempo, su memoria siempre perdura en nuestros corazones. De igual manera, quiero dedicar a dos personas importantes en mi vida, por su apoyo incondicional y valiosas enseñanzas que me brindaron. Gracias por motivarme para alcanzar mis metas, J.M. & I.O., con todo cariño y gratitud.

Mabel Andrea Cuenca Ullaguari

Dedico esta tesis a mis padres, Geovanny Ontaneda y Amparito Apolo, quienes con todo su esfuerzo me han permitido cumplir esta meta de vida para seguir adelante en mi formación profesional.

Marcos Geovanny Ontaneda Apolo

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer en primer lugar a Dios por guiarme en cada paso de mi vida y por darme la fortaleza para superar todas las adversidades. A mis padres, Daniel Cuenca y Luz Ullaguari, les expreso mi más profundo agradecimiento por su apoyo y sacrificio incondicional que han sido la base de este logro. A mis hermanos, gracias por sus palabras de motivación que me han acompañado en cada etapa del camino. Especialmente, a mi hermano Jimmy, cuyo apoyo incondicional y generosidad han sido un pilar importante en mi vida, por lo cual estoy sinceramente agradecida.

Extiendo mi más sincero agradecimiento a mi tutora, la Dra. Lita Sorroza Ochoa, por su guía, paciencia y dedicación que ha sido fundamental para el desarrollo y culminación de este trabajo. Así mismo, quiero agradecer a la Dra. Leonor Rivera Intriago y el Dr. Jorge Patricio Rentería, por sus recomendaciones que han sido un gran aporte para mejorar el contenido y calidad de este estudio.

Deseo expresar mi gratitud a todos mis amigos, que han sido una fuente de motivación y apoyo a lo largo de estos años. Agradezco a mi compañero de tesis, por su paciencia y dedicación a lo largo de este proyecto.

Mabel Andrea Cuenca Ullaguari

Me gustaría expresar mi más profunda gratitud a Dios por su otorgarme la fuerza y fortaleza para vencer todos los obstáculos a lo largo de mi vida. Quisiera agradecer a mis padres por haber me ayudado con mis estudios y la realización de este proyecto de investigación. Gracias por su constante motivación y apoyo brindado en los momentos más importantes de mi vida. Siempre contando con ellos y haciendo lo imposible por resolver los problemas.

Agradezco a mis amigos quienes me dieron una mano durante el desarrollo del proyecto. Además, agradezco a todos los docentes que formaron parte de mi formación a lo largo de la carrera.

Finalmente, quiero agradecer encarecidamente a mis tutores, Dra. Lita Sorroza, a la Dra. Leonor Rivera y al Dr. Jorge Renteria, por todos los consejos, las observaciones y la paciencia para llevar por buen camino este trabajo de investigación.

Marcos Geovanny Ontaneda Apolo

RESUMEN

El cultivo de peces se ve amenazado por las enfermedades bacterianas, lo que ha incrementado la importancia de buscar alternativas naturales para la formulación de dietas acuícolas. La fermentación permite mejorar la calidad nutricional del alimento, salud de los peces, disminuye los antinutrientes de los ingredientes de origen vegetal, siendo el caso de las harinas vegetales, las cuales son investigadas para hacer nuevas formulaciones de alimentos para los peces disminuyendo los costos de producción, al mismo tiempo se utilizan en el control de patógenos que afectan la producción. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la lenteja de agua fermentada sobre la reducción de bacterias totales en el intestino de la tilapia (*Oreochromis* sp.).

Para el desarrollo del ensayo se empleó tres tratamientos (T1: harina de *Lemna minor* al 5% agregada al balanceado, T2: fermento de harina de *Lemna minor* al 3% adicionado en el balanceado, T3: probióticos al 3% añadido en el balanceado) y un tratamiento control solo con balanceado, cada uno de ellos con tres replicas. En cada unidad experimental se colocaron 5 tilapias y se alimentaron dos veces al día durante 25 días. Al finalizar el ensayo se realizaron diluciones seriadas de las muestras del intestino de la tilapia, seguidamente de la siembra en placa para el conteo respectivo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC /g).

Los resultados de las pruebas se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de un factor, que reveló que los tratamientos y el control no tuvieron diferencias significativas en el recuento total de bacterias. Sin embargo, sí hubo para *Pseudomonas* sp. ya que fue significativamente diferente donde el tratamiento 1 fue menor que en el tratamiento control. Por el contrario, se observaron diferencias significativas para *Aeromonas* sp., donde el tratamiento control tuvo menor carga bacteriana que en otros tratamientos.

Finalmente, se necesitan hacer más investigación sobre los fermento de *Lemna minor* usando otras bacterias, no solo para la reducción de bacterias, sino también que contribuyan a mejorar el crecimiento de las tilapias.

Palabras claves: Tilapia, Fermento, *Lemna minor*, Probióticos, Bacterias Totales.

ABSTRACT

Fish farming is threatened by bacterial diseases, which has increased the importance of looking for natural alternatives for the formulation of aquaculture diets. Fermentation allows improving the nutritional quality of the feed, fish health, decreases the antinutrients of the ingredients of vegetable origin, being the case of vegetable meals, which are investigated to make new formulations of fish feed, decreasing production costs, and at the same time they are used in the control of pathogens that affect production. The objective of the present work was to determine the effect of fermented duckweed on the reduction of total bacteria in the intestine of tilapia (*Oreochromis* sp.).

Three treatments (T1: 5% duckweed meal added to the feed, T2: 3% duckweed meal ferment added to the feed, T3: 3% probiotics added to the feed) and a control treatment with only feed, each with three replicates, were used for the development of the trial. Five tilapia were placed in each experimental unit and fed twice a day for 25 days. At the end of the trial, serial dilutions of the tilapia intestine samples were performed, followed by sowing on a plate for the respective count of Colony Forming Units (CFU/g).

The results of the tests were analyzed by one-factor analysis of variance (ANOVA), which revealed that the treatments and the control had no significant differences in total bacterial counts. However, there was for *Pseudomonas* sp. as it was significantly different where treatment 1 was lower than in the control treatment. In contrast, significant differences were observed for *Aeromonas* sp. where the control treatment had a lower bacterial load than other treatments.

Finally, more research is needed on *Lemna minor* ferments using other bacteria, not only for the reduction of bacteria, but also to contribute to improve the growth of tilapia.

Key words: Tilapia, Ferment, *Lemna minor*, Probiotics, Total Bacteria.

INDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Planteamiento del Problema.....	2
1.2 Justificación	3
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo General	5
1.3.2 Objetivos Específicos.....	5
1.4 Hipótesis de la Investigación	6
1.5 Marco Teórico	7
1.5.1 Acuicultura y Problemas Asociados.....	7
1.5.2 Crecimiento de la Acuicultura a Nivel Mundial	7
1.5.3 Desafíos Sanitarios en Acuicultura	7
1.5.4 Descripción Biológica y Morfológica de la Tilapia.....	8
1.5.4.1 Taxonomía de la tilapia	8
1.5.4.2 Biología Reproductiva.....	9
1.5.4.3 Hábitos Alimenticios.....	10
1.5.5 Calidad de Agua.....	10
1.5.5.1 Oxígeno Disuelto	10
1.5.5.2 Temperatura	11
1.5.5.3 pH	11
1.5.5.4 Compuestos Nitrogenados.....	11
1.5.6 Enfermedades Bacterianas que Inciden en la Tilapia	11
1.5.7 Alternativas para la Reducción de Bacterias	12
1.5.7.1 Inmunoestimulantes	12
1.5.7.2 Ácidos orgánicos.....	12
1.5.7.3 Probióticos.	13
1.5.7.4 Prebióticos.....	13
1.5.7.5 Simbióticos	14
1.5.8 Uso de Agentes Naturales	14
1.5.9 Lenteja de Agua (<i>Lemna minor</i>)	15
1.5.9.1 Descripción y Características.	15
1.5.9.2 Hábitat.....	15
1.5.9.3 Taxonomía de <i>Lemna minor</i>	15

1.5.9.4 Composición Nutricional	16
1.5.9.5 Aplicaciones de <i>Lemna minor</i> en Acuicultura.....	17
II. MATERIALES Y MÉTODOS	19
2.1 Ubicación.....	19
2.2 Materiales y Equipos.....	19
2.2.1. Materiales.....	19
2.2.2. Equipos	20
2.2.3. Organismos	20
2.3 Diseño Experimental.....	20
2.4 Caracterización de los Tratamientos	21
2.5 Dimensiones de las Unidades Experimentales	21
2.6 Preparación de las Unidades Experimentales	22
2.7 Obtención de los Organismos	22
2.8 Aclimatación de los Peces.....	22
2.9 Alimentación.....	23
2.10 Obtención de la Lenteja de Agua	23
2.11 Procesamiento de la Harina de <i>Lemna minor</i>	23
2.12 Fermentación de la Harina de <i>Lemna minor</i>	24
2.13 Manejo de Unidades Experimentales	24
2.14 Determinación de Composición Nutricional: humedad, fibra, grasa y proteína de la harina lenteja de agua sin fermentar y fermentada.....	24
2.14.1 Análisis de Humedad	24
2.14.2 Análisis de Proteína.....	24
2.14.3 Análisis de Grasa	25
2.14.4 Análisis de Fibra	25
2.15 Medición de Talla y Peso de las Tilapias	25
2.16 Análisis Microbiológico.....	25
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
3.1 Resultados.....	26
3.1.1 Fermentación de la Harina de <i>Lemna minor</i>	26
3.1.2 Análisis de la Siembra de Muestras de Intestino de Tilapia	26
3.1.2.1 Conteo de Bacterias Totales.....	26
3.1.2.2 Conteo de <i>Pseudomonas</i> sp.....	27
3.1.2.3 Conteo de <i>Aeromonas</i> sp.....	28
3.1.3 Porcentaje de la Composición Nutricional de la harina de <i>Lemna minor</i> sin fermentar y fermentada	30
3.1.3.1 Humedad	30

3.1.3.2 Proteína	30
3.1.3.3 Grasa	30
3.1.3.4 Fibra	31
3.1.4 Índice de Talla y Peso	31
3.1.4.1 Talla de las Tilapias	31
3.1.4.2 Peso de las Tilapias	32
3.2 Discusión	32
IV. CONCLUSIONES	34
V. RECOMENDACIONES.....	35

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Ejemplares de tilapia roja.	8
Ilustración 2. Dimorfismo sexual de la tilapia.	9
Ilustración 3. Lenteja de agua.....	15
Ilustración 4. Ubicación del Laboratorio de Maricultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.	19
Ilustración 5. Ubicación del cultivo de tilapia.	22
Ilustración 6. Aclimatación de las tilapias.	23
Ilustración 7. Ubicación en donde se recolectó la lenteja de agua	23
Ilustración 8. Secado de la planta en estufa.	24
Ilustración 9. Adición de bacterias y levaduras en la harina	24
Ilustración 10. Mantenimiento de las unidades experimentales.....	48
Ilustración 11. Pesaje individual de las tilapias	48
Ilustración 12. Pesaje utilizando una regla y un fondo blanco marcado con varias medidas	48
Ilustración 13. Criadero de tilapia de donde se obtuvieron los organismos.	48
Ilustración 14. Pesaje de <i>Lemna minor</i> para determinación de humedad.....	48
Ilustración 15. Extractor de grasas.	48
Ilustración 16. Esterilización en autoclave de agar nutritivo y agar GSP.....	48
Ilustración 17. Extracción de los intestinos de los organismos seleccionados aleatoriamente.	48
Ilustración 18. Siembra de las muestras de intestino de tilapia en placas con agar nutritivo.....	48
Ilustración 19. Cámara de flujo laminar con las placas preparadas para la siembra.....	48
Ilustración 20. Disolución de la muestra previo a la siembra.....	49
Ilustración 21. Preparación de tubos de ensayos con solución salina	49
Ilustración 22. Siembra de las diluciones de las muestras en placas con agar GSP.	49

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción mundial de pesca de captura y acuicultura.....	7
Figura 2. Croquis del experimento.....	21
Figura 3. Dimensión de la unidad experimental.....	22
Figura 4. Medición del pH durante la fermentación de la harina de <i>Lemna minor</i>	26
Figura 5. Efecto de los tratamientos sobre las bacterias totales en el intestino de la tilapia.	27
Figura 6. Efecto de los tratamientos sobre la carga de <i>Pseudomonas sp.</i> en el intestino de la tilapia. 28	
Figura 7. Efecto de los tratamientos sobre la carga de <i>Aeromonas sp.</i>	29
Figura 8. Porcentaje de humedad de las harinas de lenteja de agua.	30
Figura 9. Porcentaje de proteína de las harinas de lenteja de agua.....	30
Figura 10. Porcentaje de grasa de las harinas de lenteja de agua.	30
Figura 11. Porcentaje de fibra de las harinas de lenteja de agua.	31
Figura 12. Talla inicial y final de las tilapias.	31
Figura 13. Peso inicial y final de las tilapias.....	32

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la tilapia.....	9
Tabla 2. Parámetros físicos y químicos para el cultivo de tilapia en diferentes estados de cultivo.....	10
Tabla 3. Clasificación taxonómica de la lenteja de agua.	16
Tabla 4. Caracterización de los tratamientos.....	21
Tabla 5. ANOVA de un factor sobre las bacterias totales en muestras de intestino de tilapia.	26
Tabla 6. Comparación del efecto de los tratamientos sobre la carga de bacterias totales.	27
Tabla 7. ANOVA de un factor sobre las bacterias totales en muestras de intestino de tilapia.	27
Tabla 8. Comparación del efecto de los tratamientos sobre la carga de <i>Pseudomonas</i> sp.	28
Tabla 9. ANOVA de un factor sobre las <i>Aeromonas</i> sp. en muestras de intestino de tilapia.....	29
Tabla 10. Comparación del efecto de los tratamientos sobre la carga de <i>Aeromonas</i> sp.	29

I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura ha experimentado un rápido crecimiento global en las últimas décadas. Según la FAO, (2022) la producción acuícola mundial ha pasado de 22 millones de toneladas en 1990 a 87,5 millones de toneladas en 2020. Se calcula que para el año 2030 la producción mundial de acuicultura alcance los 106 millones de toneladas, superando la pesca de captura como principal fuente de consumo de pescado. Este incremento se debe en parte al estancamiento pesquero y también debido a la alta demanda de productos acuáticos por el crecimiento poblacional.

Los datos proporcionados por la FAO, (2020) revelan que entre los años 2000 y 2017, la tasa de crecimiento en Latinoamérica y el Caribe fue del 6,8%. En detalle, Sudamérica experimentó un crecimiento del 6,8% y América central registró un 7,5%. Estos hallazgos difieren de la tasa de crecimiento promedio global que fue del 5,3%.

En las últimas décadas, el cultivo de tilapia ha crecido vertiginosamente, con un ritmo de crecimiento anual del 10%, lo que la convierte en una de las especies de peces con mayor producción acuícola del mundo. China seguirá liderando, pero países como México y Brasil también tienen el potencial de convertirse en importantes productores mundiales, gracias a las ventajas productivas de la tilapia, como su rápido crecimiento, tolera amplios rangos de condiciones ambientales, resistencia a las enfermedades y estrés, etc. Sin embargo, su cultivo intensivo puede provocar problemas de salud por la propagación de bacterias patógenas (El-Sayed, 2020).

Las infecciones bacterianas representan una amenaza significativa en la acuicultura de agua dulce, con patógenos como *Aeromonas* spp., *Flavobacterium* spp. y *Pseudomonas* spp. causando brotes y mortalidades (Pekala-Safińska, 2018).

El uso de aditivos naturales en la dieta, como la lenteja de agua fermentada puede llegar a ser una alternativa al determinar su impacto específico en la disminución de la carga bacteriana permitiendo evaluar su capacidad para mejorar la productividad y la bioseguridad de manera ecoamigable en uno de los cultivos acuícolas más importantes en Latinoamérica y el mundo.

1.1 Planteamiento del Problema

La acuicultura es una industria que se enfrenta a desafíos significativos, uno de ellos es la prevención de enfermedades bacterianas en la producción de peces. La tilapia es considerada una especie resistente a las bacterias patógenas, debido a que los microorganismos bacterianos frecuentemente forman parte de la flora nativa, no obstante, algunos factores como: la mala calidad del agua, causada por la intensificación de los cultivos provoca estrés en los peces, debilitando el sistema inmune y dejando susceptible al animal frente a las bacterias patógenas.

Se han realizado investigaciones sobre el potencial de diversos compuestos y aditivos naturales, como productos profilácticos en el control de patologías bacterianas en sistemas de acuicultura. Un ejemplo destacado es la incorporación de macrófitas acuáticas al balanceado, lo cual ha demostrado ser efectivo para mejorar significativamente la producción de peces.

Por lo tanto, es importante investigar y comprender el potencial sinérgico entre la harina de *Lemna minor* y los probióticos en la disminución de la carga bacteriana en tilapia. El objetivo de esta investigación es determinar si la inclusión de lenteja de agua fermentada en la dieta de la tilapia puede ofrecer una solución eficaz y sostenible para reducir las bacterias intestinales patógenas. Esto, a su vez, contribuirá a mejorar la sanidad y calidad de los productos acuícolas. En esencia, se busca optimizar la microbiota intestinal y reducir el riesgo de infecciones bacterianas.

1.2 Justificación

En la búsqueda de nuevas formas de mantener la salud de los peces, se están estudiando alternativas naturales como el uso de plantas y otros aditivos en la formulación de dietas acuícolas. Las características más importantes de las alternativas naturales incorporadas en los alimentos radican en la mejora del crecimiento, reemplazo parcial de harina de pescado, promueve la respuesta inmune, control de enfermedades, antioxidantes y estimulante de la digestión y del apetito (Jamil *et al.*, 2023).

Los probióticos poseen efectos antimicrobianos como la de alterar la microbiota intestinal a través de la segregación de sustancias antibacterianas como bacteriocinas y ácidos orgánicos. Asimismo, compiten con los patógenos para prevenir su adhesión al intestino y por los nutrientes, modulan el sistema inmunitario y pueden revertir los efectos negativos de los antibióticos (Martínez *et al.*, 2012; Butt y Volkoff, 2019).

Los prebióticos son carbohidratos de estructura compleja y extensa que brindan energía a los probióticos, microorganismos beneficiosos, para mejorar la salud del huésped. Estos compuestos se derivan principalmente de alimentos vegetales, hongos comestibles y, en menor medida, de productos lácteos de origen animal. Los prebióticos ayudan a mantener la salud intestinal al evitar que los microorganismos perjudiciales se unan a las células epiteliales (Wee *et al.*, 2022).

El término "simbiótico" se refiere a la combinación de probióticos y prebióticos en un producto para producir efectos sinérgicos. La idea de que los prebióticos funcionan mejor cuando se combinan con probióticos, formando parte de una simbiosis, está respaldada por muchos ejemplos. La combinación simbiótica tiene como objetivo aumentar la supervivencia y la actividad in vivo de los probióticos, validados para impulsar o potenciar las propiedades beneficiosas de ambos (Roy y Dhaneshwar, 2023).

Existen una gran variedad de plantas acuáticas que han sido utilizadas en fermentos para la alimentación de organismos acuáticos como son: *Eicchornia crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Azolla* sp., *Ipomoea aquatica*, *Spirodela* sp.; y también *Lemna minor* debido a su potencial en términos de alta productividad y accesibilidad local, la *Lemna minor* emerge como una fuente alternativa de insumos para la alimentación de peces. Esta planta forma densas capas en cuerpos de agua lenticos y ricos en nutrientes. En peso seco, tiene un alto contenido proteico, oscilando entre el 22% y el 38% (Iskandar *et al.*, 2019).

La adición de harinas vegetales fermentadas en la dieta de peces cumple con la función de prebióticos para optimizar la microbiota intestinal de los peces, fortaleciendo la respuesta inmune y reduciendo la susceptibilidad a infecciones bacterianas. Además, la lenteja de agua, respaldada por sus compuestos como son taninos y flavonoides, ofrecen una alternativa natural en el control de patógenos.

El enfoque integral para combatir las infecciones bacterianas en la tilapia resalta la complejidad del problema, mientras que la modificación de la microbiota intestinal a través de fermentos refuerza la necesidad de investigar los beneficios de la *Lemna minor*.

La importancia del cultivo de tilapia a nivel mundial crea la necesidad de investigar soluciones efectivas para la reducción de enfermedades bacterianas, y la lenteja de agua fermentada es prometedora para reducir los riesgos de infecciones por estos patógenos, mejorando así la sostenibilidad y la bioseguridad de la acuicultura.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la lenteja de agua (*Lemna minor*) fermentada sobre la reducción de bacterias totales en la tilapia (*Oreochromis* sp.).

1.3.2 Objetivos Específicos

- Elaborar el fermento con harina de *Lemna minor*.
- Comparar la composición nutricional de la harina de *Lemna minor* fermentada.
- Determinar el efecto de la lenteja de agua fermentada en la disminución de la carga total bacteriana del tracto intestinal de la tilapia en respuesta a las dietas enriquecidas.
- Cuantificar la carga de *Pseudomonas* sp. y *Aeromonas* sp. en respuesta a las dietas enriquecidas.
- Analizar el efecto de las dietas enriquecidas en cuanto a la talla y peso de las tilapias.

1.4 Hipótesis de la Investigación

Para reducir el uso de antibióticos que tienen efectos adversos en los peces, la acuicultura actualmente busca métodos de combate a las infecciones bacterianas más ecológicos y menos costosos. Esto se debe al uso excesivo de antimicrobianos y productos químicos que pueden provocar la formación de bacterias resistentes y la acumulación de desechos perjudiciales con el ambiente. En este sentido, la suplementación de dietas balanceadas con ingredientes fermentados se presenta como una solución ya que pueden mejorar la salud y la respuesta inmune de los peces de cultivo.

Si se adiciona harina de *Lemna minor* fermentada a través de bacterias y levaduras en las dietas balanceadas, entonces tendrá una mayor reducción de bacterias en el intestino del pez.

1.5 Marco Teórico

1.5.1 Acuicultura y Problemas Asociados

La acuicultura se considera como la producción de organismos acuáticos (peces, crustáceos, moluscos y macrófitas). Es un sector de producción a nivel mundial en crecimiento debido a la demanda de alimento de las poblaciones, por ello es importante que sea rentable en lo económico, social, nutricional y ambiental (Ahmed y Thompson, 2019). No obstante, la actividad acuícola de forma continua deteriora la calidad del agua, debido a los alimentos no consumidos y las heces de las especies acuáticas causando compuestos nitrogenados que en exceso son perjudiciales al ser vertidas en aguas naturales, por ende, se deben implementar medidas de purificación y reutilización del agua residual en las granjas acuícolas (Guan *et al.*, 2022).

1.5.2 Crecimiento de la Acuicultura a Nivel Mundial

En los últimos años, la acuicultura a nivel mundial se ha desarrollado de forma rápida y eficaz, permitiendo abastecer la creciente población mundial con productos provenientes del mar o de cultivos continentales. El pescado y el camarón son productos de alta calidad y alto valor proteico, contienen minerales, vitaminas, entre otros nutrientes, que los convierten en productos acuáticos comercialmente apetecibles en todo el mundo. El principal productor de organismos acuáticos de agua dulce es China (Zhou *et al.*, 2023).

Figura 1. Producción global de pesca de captura y acuicultura.



Fuente: (FAO, 2022).

1.5.3 Desafíos Sanitarios en Acuicultura

El sector acuícola se ve afectado por diversos problemas que limitan su desarrollo y producción. El principal factor limitante de las especies acuáticas son las enfermedades que se ven influenciadas por el cambio climático, mala nutrición, mala calidad del agua, variación de temperatura, manipulación y densidad de población. Estas condiciones provocan estrés en los

organismos dejándolos vulnerables a los patógenos (Wang *et al.*, 2023). La intensificación de los cultivos ha aumentado el hacinamiento de las especies acuícolas y la calidad del agua ha disminuido. Los tratamientos veterinarios para prevenir y tratar enfermedades suelen ser utilizados para enfrentar las pérdidas económicas estrechamente relacionadas con las deficiencias sanitarias (Reverter *et al.*, 2017).

Se ha implementado el uso de suplementos alimenticios para fortalecer el sistema inmunológico de las especies acuáticas, el empleo de plantas medicinales y probióticos ha permitido limitar el uso de antibióticos. Los suplementos alimenticios son económicamente rentables, proveen un mejor crecimiento, una eficiencia alimenticia, y contribuyen en la prevención de enfermedades (Reverter *et al.*, 2021).

1.5.4 Descripción Biológica y Morfológica de la Tilapia

Según Alcántar-Vázquez *et al.*, (2014) la tilapia es un organismo altamente adaptable. Originaria de África, esta especie ha logrado extenderse ampliamente en gran parte de las regiones tropicales y subtropicales para su cultivo. En cuanto a su morfología, posee una boca ancha y protáctil con labios sobresalientes y dientes cónicos, los cuales maximizan una dieta omnívora. El papel de las aletas pares e impares en la locomoción es similar: las primeras facilitan la propulsión, mientras que las segundas mantienen la estabilidad direccional (Saavedra, 2006).

Ilustración 1. Ejemplares de tilapia roja.



Fuente: (Lingam et al., 2021).

1.5.4.1 Taxonomía de la tilapia. A pesar de la descripción de más de 70 especies de tilapia, se genera un debate considerable sobre la verdadera separación entre estas especies, debido a la similitud y superposición morfológica, así como a la hibridación, su clasificación se torna confusa. El género *Tilapia* se subdivide en dos subgéneros: *Tilapia* (anidadores de sustrato) y *Sarotherodon* (incubación bucal) (El-Sayed, 2020).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la tilapia.

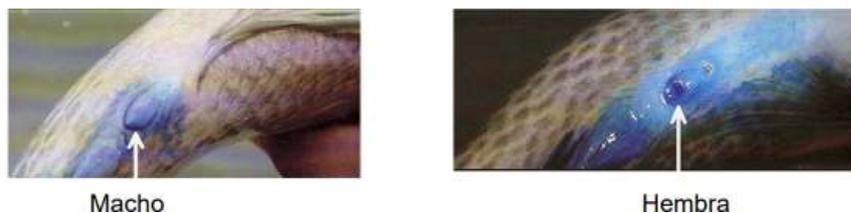
Taxonomía de la tilapia	
Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Subfilo:	Vertebrata
Superclase:	Gnathostomata
Clase:	Actinopterygii
Orden:	Perciformes
Suborden:	Percoidei
Familia:	Cichlidae
Género	<i>Oreochromis</i>
Especie:	<i>Oreochromis</i> sp.

Fuente: (Hernández-Sánchez y Aguilera-Morales, 2012)
citando a (Trewavas, 1983).

1.5.4.2 Biología Reproductiva. La tilapia tiene un dimorfismo sexual notable permitiendo distinguir claramente entre machos y hembras. En la región caudal, los machos tienen dos orificios genitales (ano y urogenital), mientras que las hembras tienen tres orificios genitales (ano, poro genital y urinario) (Reyes-Trigueros *et al.*, 2023). La madurez sexual se alcanza entre los 8-13 cm en ejemplares en cautiverio y entre 20-30 cm en condiciones naturales (Shoko *et al.*, 2015).

Según señala Baltazar, (2007) todas las especies de tilapia presentan una madurez sexual precoz, estimada en 30-50 gramos. La fecundidad de las hembras es elevada, con 4 a 5 puestas de 200 a 2000 huevos por desove cada año. Luego de la fecundación los progenitores resguardan los embriones hasta la eclosión y posterior etapa larval de natación.

Ilustración 2. Dimorfismo sexual de la tilapia.



Fuente: (Saavedra, 2006).

1.5.4.3 Hábitos Alimenticios. La dieta de la tilapia varía según la especie y la etapa de la vida. Las tilapias en cultivo suelen consumir fitoplancton o zooplancton, con preferencia por el zooplancton o el fitoplancton dependiendo de la especie y la edad. También aceptan con facilidad alimentos balanceados. Los alevines se alimentan de detritus y neuston. En cambio, los juveniles se alimentan de zooplancton, y los adultos son omnívoros y se alimentan filtrando sus branquiespinas. En los sistemas de cultivo, a menudo se utiliza la fertilización para producir alimento natural (Stickney, 2017).

1.5.5 Calidad de Agua

La idoneidad del agua se encuentra condicionada por sus atributos físico-químicos, siendo cruciales, entre otros, la temperatura, el contenido de oxígeno, el nivel de pH y la transparencia. Características que inciden significativamente en la producción y reproducción de los organismos acuáticos, especialmente en el caso de la tilapia. Por consiguiente, resulta imperativo mantener las características fisicoquímicas del agua en niveles adecuados que propicien el desarrollo adecuado en *Oreochromis* sp. (Saavedra, 2006).

Tabla 2. Parámetros físicos y químicos para el cultivo de tilapia en diferentes estados de cultivo.

Parámetro	Levante			Pre-engorde			Engorde			Rango normal
	M + DS	min	máx	M + DS	min	máx	M + DS	min	máx	
pH	7,8 ± 0,4	6,7	7,9	7,1 ± 0,2	6,7	7,3	7,5 ± 0,5	7	8,1	6 - 9
Oxígeno disuelto	3,6 ± 0,7	2,7	4,6	4,1 ± 0,9	2,7	5,1	4,1 ± 0,9	2,4	4,9	4 - 5 mg/L
Temperatura	28,1 ± 0,6	27,3	28,9	28,0 ± 0,5	27,3	28,9	27,8 ± 0,3	27,2	28,1	27 - 32 °C
Transparencia	42,4 ± 1,4	40,0	44,0	42,4 ± 1,3	40	44	39,4 ± 5,2	35	46	30 - 45 cm
Amonio	0,2 ± 0,1	0,1	0,3	0,2 ± 0,0	0,2	0,3	0,2 ± 0,1	0,1	0,3	< 2 mg/L
Dureza	46,1 ± 2,9 ^a	41,3	49,1	46,7 ± 1,3 ^a	44,9	48,3	48,7 ± 0,8 ^b	48,2	49,7	40 - 200 mg/L
Alcalinidad	40,0 ± 6,3	28,1	44,2	42,2 ± 1,6	39,4	44,2	42,5 ± 0,8	41,4	43,2	50 - 200 mg/L

Fuente: (Perdomo et al., 2012).

1.5.5.1 Oxígeno Disuelto. Este parámetro afecta directamente a la nutrición y el metabolismo de los peces, así como al estado del medio acuático. La demanda de oxígeno en el agua abarca diversas funciones biológicas, incluida la respiración (Mohan et al., 2021). A pesar de su capacidad para soportar niveles bajos de oxígeno disuelto, las tilapias exhiben un crecimiento óptimo cuando las concentraciones exceden los 3 mg/L e inclusive tolerar 40 mg/L (Magid y Babiker, 1975; Makori et al., 2017).

1.5.5.2 Temperatura. En las regiones templadas y subtropicales, la temperatura juega un papel vital en la fisiología, el crecimiento, la reproducción y el metabolismo de la tilapia. La tilapia se ha ganado una reputación por su capacidad para soportar temperaturas extremas del agua. Sin embargo, muchas especies de *Oreochromis* sp. no pueden sobrevivir en temperaturas inferiores a 10°C y no prosperan en temperaturas inferiores a 20°C. Los niveles adecuados de temperatura para el crecimiento, procesos metabólicos, reproducción y desarrollo de *Oreochromis* sp. es entre 25 y 32 °C (El-Sayed y Kawanna, 2008).

1.5.5.3 pH. La exposición de organismos acuáticos a extremos de pH conlleva consecuencias estresantes o letales; pero los impactos indirectos derivados de la variación del pH y sus interacciones con otras variables adquieren relevancia superior en la acuicultura en comparación con los efectos directamente tóxicos. El rango óptimo de pH para el crecimiento y el bienestar en numerosos organismos acuáticos de agua dulce se sitúa entre 6,5 y 9,0. Diversos estudios han destacado la trascendencia del pH del agua en las fases tempranas del desarrollo, la tasa de mortalidad y la resistencia a enfermedades en peces (Swain *et al.*, 2020).

1.5.5.4 Compuestos Nitrogenados. Las fuentes de amoníaco en los estanques provienen de las proteínas de la dieta de los peces y del metabolismo residual de estos organismos, que se manifiesta en forma de excreciones fecales y urinarias. Las concentraciones de amoníaco se ven afectadas por las condiciones ambientales acuáticas, específicamente el pH y la temperatura del agua del estanque. A pH y temperatura más altos, es decir, cuando el medio se vuelve demasiado alcalino, el amoníaco se convierte principalmente en la forma molecular NH₃. La molécula de amoníaco (NH₃) es más tóxica que su forma iónica (Maulini *et al.*, 2022).

El amonio (NH₄⁺) es más tóxico debido a su capacidad de atravesar las membranas celulares. Las proporciones entre estas formas se ven afectadas por el pH del medio ambiente, siendo aproximadamente el 1% no ionizado a pH 7,3, aproximadamente el 10% a pH 8,3 y aproximadamente el 50% a pH 9,3. Los niveles elevados de iones amonio (NH₄⁺) provocan la muerte del sistema nervioso en los vertebrados (Paul *et al.*, 2020).

1.5.6 Enfermedades Bacterianas que Inciden en la Tilapia

Las tilapias son susceptibles a infecciones por *Streptococcus* sp., que actualmente figura entre los patógenos bacterianos más representativos, generando importantes pérdidas económicas. Otros agentes bacterianos infecciosos relevantes incluyen *Francisella noatunensis*, causante de la franciselosis; *Flavobacterium columnare*, responsable de la columnaris; *Aeromonas hydrophila*, *A. jandaei* y *A. veronii*, causantes de la septicemia; vibriosis ocasionada por *Vibrio* spp. y edwardsiellosis causada por *Edwardsiella ictaluri* y *E.*

tarda. (Debnath *et al.*, 2023). Otros autores manifiestan que hay bacterias las cuales actúan como oportunistas incluyendo: *Micrococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp. (Siamujompa *et al.*, 2023).

1.5.7 Alternativas para la Reducción de Bacterias

Los antibióticos se utilizan comúnmente en la acuicultura para prevenir y controlar enfermedades bacterianas. La regulación de su uso industrial varía mucho de un país a otro, y muchos países no cumplen plenamente con estas regulaciones. Dando como resultado la acumulación de residuos de fármacos en el ambiente con consecuencias nocivas para la salud pública. La proliferación de bacterias resistentes a los antimicrobianos es una consecuencia directa de este uso incontrolado. Ante este desafío, es crucial investigar y aplicar alternativas para limitar el uso de antimicrobianos en los sistemas acuícolas (Bhat *et al.*, 2022; Pepi y Focardi, 2021).

Existe una gran variedad de productos para controlar las enfermedades de origen bacteriano entre los cuales destacan los siguientes:

1.5.7.1 Inmunoestimulantes. Se utilizan inmunoestimulantes naturales y químicos para mejorar la respuesta inmune del huésped y promover la supervivencia de los animales de granja. Estos compuestos pueden activar o mejorar la inmunidad no específica del huésped, incluida la inmunidad celular y la inmunidad humoral, previniendo así eficazmente las infecciones bacterianas (Zhang *et al.*, 2021). Además, se utilizan para contrarrestar la inmunosupresión provocada por factores de estrés, prevenir brotes estacionales o suprimir el tratamiento de posibles (Barman *et al.*, 2013).

1.5.7.2 Ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos son compuestos de cadena corta de carbonos que son ligeramente ácidos debido a sus grupos carboxilo y exhiben actividad antimicrobiana al acidificar el citoplasma bacteriano. La forma no disociada (R-COO) cruza fácilmente las membranas celulares y se disocia internamente en R-COO⁻ e iones de hidrógeno en ambientes alcalinos. La liberación de H⁺ reduce el pH citoplasmático, afectando el crecimiento o supervivencia de bacterias sensibles (Romano y Nurul, 2014). Estos ácidos son conocidos como "modificadores del medio intestinal", debido a que promueven el crecimiento, refuerzan la actividad antimicrobiana del organismo y potencian la digestibilidad de los nutrientes (Kandikatla y Kondamudi, 2016).

1.5.7.3 Probióticos. Los probióticos están constituidos por microorganismos vivos no infecciosos que proporcionan beneficios en la salud del huésped. Los probióticos se usan para prevenir y tratar enfermedades, ya que no causan resistencia de los microorganismos patógenos en el tracto digestivo del animal. Además, mantienen en buenas condiciones la composición de la microbiota y contrarrestan la proliferación de patógenos (Chizhayeva *et al.*, 2022).

En acuicultura los probióticos se emplean para mejorar la calidad del agua reduciendo las bacterias del medio, y también se utilizan en los alimentos de los organismos acuáticos, para aumentar el crecimiento y la resistencia a los patógenos. La fuente de obtención de los microorganismos con potencial probiótico son los mocos intestinales y las heces de los peces, los cuales son aislados, estudiados y utilizados en los piensos (Pereira *et al.*, 2022). Amenyogbe, (2023) sugiere que los microorganismos procedentes del huésped son los mejores para desempeñar un papel significativo en el sistema de protección natural del organismo.

Los probióticos más utilizados en la acuicultura incluyen microalgas como la *Tetraselmis* y levaduras como *Debaryomyces*, *Phaffi* y *Saccharomyces*. También se emplean bacterias Gram positivas como *Bacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium* y *Weissella*, así mismo, bacterias Gram negativas como *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Vibrio* y *Photordobacterium* (Ringo *et al.*, 2020).

Se puede utilizar una cepa única de probiótico (SSP) o utilizar múltiples cepas de probióticos (MSP), esta última cepa puede ser combinada con una especie igual o del mismo género, así mismo se pueden utilizar probióticos multiespecies donde se combina diferentes especies y géneros. Se ha utilizado un probiótico combinado con *B. subtilis* y *B. cereus* en una dosis de $0,5 \times 10^8$ UFC/g, el cual se ha incorporado en la alimentación de *Oreochromis niloticus* mostrando una alta supervivencia y un mejor crecimiento (Xia *et al.*, 2020).

1.5.7.4 Prebióticos. Los prebióticos son carbohidratos, sustratos, nutrientes o fibras que aportan energía y se utilizan en la alimentación de las bacterias beneficiosas del tracto gastrointestinal del huésped. El uso de los prebióticos permite promover el crecimiento, optimizar el sistema inmune y promover la resistencia a los patógenos de los organismos acuáticos de una forma amigable con el ambiente. En acuicultura los prebióticos son utilizados como complemento en los piensos para promover el incremento de microorganismos benéficos en el tracto intestinal de los organismos acuáticos mejorando la salud (Wee *et al.*, 2022).

Es posible encontrar los prebióticos en algunos alimentos como manzanas, tomates, mango, ajo, cebolla, frijoles, lenteja, cebada, avena, entre otros. En acuicultura los prebióticos más empleados incluyen fructooligosacáridos (FOS), quitosano (CTS), β -glucanos (GLU), mananoligosacáridos (MOS) y xilooligosacáridos (XOS). El uso de los prebióticos en la acuicultura promueve un mejor crecimiento, supervivencia, fortalecimiento del sistema inmune y resistencia a los patógenos (Zhu *et al.*, 2023).

1.5.7.5 Simbióticos. Los simbióticos son suplementos alimenticios que combinan los probióticos y prebióticos, los cuales actúan de forma sinérgica promoviendo mejores efectos beneficiosos. El efecto positivo de la utilización de aditivos alimenticios suele resultar en uno de los tres patrones como el sinergismo, potenciación o efectos de los ingredientes. La combinación de los aditivos dietéticos de simbióticos es importante y eficiente para mejorar la estabilidad de los organismos beneficiosos, debido a que la presencia de prebióticos protege una fermentación organizada (Srirengaraj *et al.*, 2023).

Se han utilizado compuestos de probióticos (*Bacillus subtilis*) y prebióticos (Mananoligosacáridos-MOS) en las dietas de alevines *L. fimbriatus*, demostrando que los peces alimentados con 0,5 % de MOS y 10^4 UFC de *B. subtilis*/g tienen un mejor crecimiento, y los peces que se alimentaron con 0,5 % de MOS y 10^6 UFC de *B. subtilis*/g presentaron una mejora en la actividad de proteasa intestinal (Pawar *et al.*, 2023).

1.5.8 Uso de Agentes Naturales

Las plantas o sus extractos se utilizan en acuicultura como medicamentos para tratar diferentes enfermedades, ayudando a mejorar la salud de los animales y fortalecer su sistema inmunológico. Estas plantas medicinales contienen principios activos como alcaloides, ácidos orgánicos, flavonoides y taninos; que están relacionados con la función inmune de los animales. Al ser un producto natural evita la resistencia de los medicamentos en los animales de granja, haciéndolos más seguros para el consumo humano (Zhu, 2020). Los fitomedicamentos para el control de enfermedades tienen éxito porque son rentables, respetuosos con el medio ambiente y tienen efectos secundarios mínimos (Pandey *et al.*, 2012).

Para tratar las enfermedades de los peces se utilizan una gran cantidad de plantas medicinales con propiedades antivirales, antibacterianas y antiparasitarias. De sus partes se extraen los principios activos de estas plantas medicinales. Se utilizan principalmente hojas, pero también se utilizan rizomas, frutos, raíces, semillas, cortezas y bulbos. Las plantas medicinales contienen una amplia gama de metabolitos secundarios y fitoquímicos, incluidos

taninos, alcaloides y flavonoides, que tienen un impacto en una variedad de enfermedades de los peces. El metanol se utiliza principalmente para extraer estas sustancias activas de estos vegetales (Stratev *et al.*, 2018).

1.5.9 Lenteja de Agua (*Lemna minor*)

1.5.9.1 Descripción y Características. Se caracteriza por ser pequeña y de rápido crecimiento, lo cual permite que en un periodo corto llegue a ocupar grandes áreas acuáticas. La lenteja de agua está conformada por una o dos hojas denominadas frondas, y una raíz sin tallo. El tamaño de las hojas puede ser de 3-5 mm de longitud y de 2-4 mm de ancho, la raíz puede tener una longitud de 5 a 7 cm (Homidchonova y Mahmudova, 2022). A pesar de poseer pocas hojas flotantes y raíces específicas, son verdaderas plantas vasculares pertenecientes al grupo de las monocotiledóneas que se encuentran relacionadas con las Araceae (Liebers *et al.*, 2023).

Ilustración 3. Lenteja de agua.



Fuente: (Kutschera y Niklas, 2015).

1.5.9.2 Hábitat. Se distribuye en la superficie de cuerpos de aguas lenticos poco profundos. Se desarrollan en ecosistemas de agua dulce como lagunas, lagos, estanques y humedales, su crecimiento va a depender de las condiciones del medio ambiente. Por consiguiente, si el medio que habitan contiene los nutrientes necesarios para su desarrollo, la lenteja de agua puede duplicar su biomasa en menos de 48 horas (Acosta *et al.*, 2021).

1.5.9.3 Taxonomía de *Lemna minor*. Perteneciente a la familia *Lemnaceae*, existen alrededor de 40 especies distribuidas en cinco géneros (*Lemna*, *Landoltia*, *Spirodela*, *Wolffia* y *Wolffiella*). Por su morfología, distribución global y su elevada plasticidad fenotípica según las condiciones ambientales, es un desafío para la clasificación taxonómica del grupo, por lo que se necesitan técnicas avanzadas de identificación, como los estudios moleculares, para aclararlo (Ekperusi *et al.*, 2019).

Tabla 3. Clasificación taxonómica de la lenteja de agua.

Taxonomía de la lenteja de agua	
Dominio:	Eukaryota
Reino:	Plantae
Filo:	Spermatophyta
Subfilo:	Angiospermae
Clase:	Monocotyledonae
Orden:	Araceae (Arales)
Familia:	Lemnaceae
Género:	<i>Lemna</i>
Especie:	<i>Lemna minor</i>

Fuente: (Ekperusi et al., 2019).

1.5.9.4 Composición Nutricional. La lenteja de agua presenta una fuente de proteínas entre 15 % y 25 % y un contenido de fibra del 15 % al 30 %, cuando crecen en aguas pobres de nutrientes. En contraste, bajo condiciones ambientales óptimas, con una proteína bruta de entre el 35 % y el 43 %, acompañada de fibras que varían entre el 5 % y el 15 %, y alrededor del 5 % de grasas poliinsaturadas según la especie. Además, poseen una elevada concentración de oligoelementos, potasio (K) y fósforo (P), así como pigmentos como los carotenos y las xantofilas. Asimismo, es rica en vitaminas A y B, lo que la convierte en una opción nutricionalmente valioso para la alimentación de peces y otros animales (Leng et al., 1995).

La limitación del uso de plantas vegetales como ingredientes en los alimentos acuícolas puede ser la presencia de factores antinutricionales como ácido fítico, oxalatos y taninos, aunque pueden ser reducidos los efectos por procedimientos como la fermentación y extrusión. Son plantas acuáticas que tienen alto contenido de lisina y metionina, convirtiéndola en idónea para la alimentación de animales. Además, es rica en contenido de aminoácidos esenciales como leucina, isoleucina, cisteína, histidina, valina, arginina, treonina y metionina (Goswami et al., 2022; Mustofa et al., 2022; Turck et al., 2022).

1.5.9.5 Aplicaciones de *Lemna minor* en Acuicultura. La lenteja de agua se caracteriza por su rápido crecimiento, disminución microbiana y elevada acumulación de nutrientes y metales pesados, característica que la define como una planta de interés para la acuicultura (Wahman *et al.*, 2021). La mayoría de las especies de *Lemna* se emplean en la acuicultura debido a su potencial de fitorremediación, transformación de biomasa y elevado aporte nutricional que puede llegar a ser superiores a otros ingredientes alimenticios ya existentes (Cipriani *et al.*, 2021).

Se ha empleado la harina de *Lemna minor* como un ingrediente en las dietas para los peces, debido a que son ricos en proteína y son económicamente rentables, por ende, no implica métodos adicionales para eliminar el efecto de los antinutrientes. Se pueden utilizar en los alimentos para peces de agua cálida o fría. En las dietas de tilapia y carpa, se ha empleado dando como resultado una conversión eficiente de biomasa (Naseem *et al.*, 2020).

La fitorremediación es una técnica no tradicional para el tratamiento de aguas negras, en especial en zonas rurales donde el uso de métodos convencionales puede resultar muy costos. Esta técnica se basa en el aprovechamiento de plantas acuáticas (*Eichhornia crassipes*, *Lemna minor* y *Phragmites australis*) que poseen la capacidad de remover, transformar y eliminar diversos contaminantes como son las coliformes fecales (León *et al.*, 2018).

Opiyo *et al.*, (2022) demostraron que la inclusión de harina de *Lemna minor* en la dieta de tilapia aumenta significativamente los niveles de ácidos grasos poliinsaturados, con un aumento de los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) aumentaron más de diez veces, pasando del 0.5 % al 5 % de los ácidos grasos totales cada uno, en los peces alimentados con un 20 % de *Lemna minor* en comparación con los que consumieron la dieta de control. Recomendando la inclusión de harina de *Lemna minor* en la dieta del 15% al 20% mejoran la composición de omega-3 del músculo sin mejorar significativamente el crecimiento. No obstante, Okomoda, (2012) determinó que una inclusión del 5% de harina de *Lemna minor* mejora la ganancia de peso, el FCA, el crecimiento en la tilapia del Nilo.

En el estudio de Herawati *et al.*, (2020) establecieron el tiempo de fermentación ideal para la harina de *Lemna minor* en el crecimiento y calidad nutricional de *Oreochromis niloticus* mediante la inclusión de 2,5% a 7,5% en el alimento balanceado. Los resultados revelaron que el tratamiento con una inclusión del 2,5% con 7 días de fermentación dieron respuestas positivas tanto en el crecimiento, el FCA y la supervivencia, así como en un mejor perfil de aminoácidos y ácidos grasos.

El proceso de fermentación implica la oxidación parcial de compuestos orgánicos en un ambiente completamente anaerobio, dando como resultado la producción de una sustancia orgánica (García *et al.*, 2021). En este proceso se utilizan diversos microorganismos, tales como *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Aspergillus* sp. y *Saccharomyces cerevisiae* (Mukherjee *et al.*, 2016). Las bacterias lácticas desempeñan un papel crucial en la fermentación ya que generan agentes antimicrobianos, azúcares, compuestos aromáticos, vitaminas y enzimas (Leroy y De Vuyst, 2004). Por ejemplo, *Lactobacillus acidophilus* exhibe propiedades probióticas debido a la producción de bacteriocinas que modulan la microbiota intestinal (Anjum *et al.*, 2014).

La *Lemna minor* contiene metabolitos con propiedades bioactivas que pueden actuar como antioxidantes y antibacterianas. Los compuestos fenoles, flavonoides, esteroides, terpenos, ácidos fenólicos, entre otros, han demostrado que la lenteja de agua puede actuar como bactericida (Regni *et al.*, 2021). Los extractos de plantas acuáticas son fuentes de compuestos antimicrobianos con capacidad de inhibir bacterias patógenas en peces (González-Rentería *et al.*, 2020; Novita *et al.*, 2021; Saturno *et al.*, 2019).

Gülçin *et al.*, (2010) demostraron que los extractos metanólicos y liofilizados en agua de *L. minor* en concentraciones de 45 µg/mL poseen inhibición contra bacterias Gram + (*Staphylococcus epidermidis*, *S. warneri*, *S. saprophyticus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*), Gram – (*Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Neisseria lactamica* y *Neisseria sicca*). Además, obtuvieron un efecto inhibitorio contra hongos del género *Candida parapsilosis* y *Candida glabrata*. Así mismo, González-Rentería *et al.*, (2020) examinaron el potencial antibacteriano de *Lemna minor* frente a *Pseudomonas fluorescens* comparando diferentes solventes (hexano, cloroformo y metanol) para la extracción. Los hallazgos mostraron que el extracto de hexano tenía la mayor actividad antibacteriana, seguido por los extractos de cloroformo y metanol.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Ubicación

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Maricultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica. Se encuentra ubicada en el Km 5 1/2 vía Machala-Pasaje, cuyas coordenadas son: 3°17'28.8"S 79°54'50.1"W.

Ilustración 4. Ubicación del Laboratorio de Maricultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.



2.2 Materiales y Equipos

2.2.1. Materiales

- 12 recipientes de plástico (95 L)
- Aireadores
- Manguera para acuario
- Piedras difusoras
- Placas Petri
- Pipetas de 10 ml
- Micropipetas
- Matraz Erlenmeyer
- Vaso de precipitado
- Agua destilada
- Alcohol industrial
- Asa de Drigalski
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Fundas Polifan

- Balanceado
- Vidrio de reloj
- Espátula
- Bisturí
- Pegante
- Camarón Total Pack
- Harina de *Lemna minor*
- Agar nutritivo
- Cloruro de sodio
- Agar GSP
- Melaza
- Mandil
- Guantes

2.2.2. Equipos

- Estufa
- Mufla
- Autoclave
- Reverbero
- Desecadora
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Digestor de fibra cruda VELP
- Extractor de grasas
- Balanza analítica
- Balanza gramera

2.2.3. Organismos

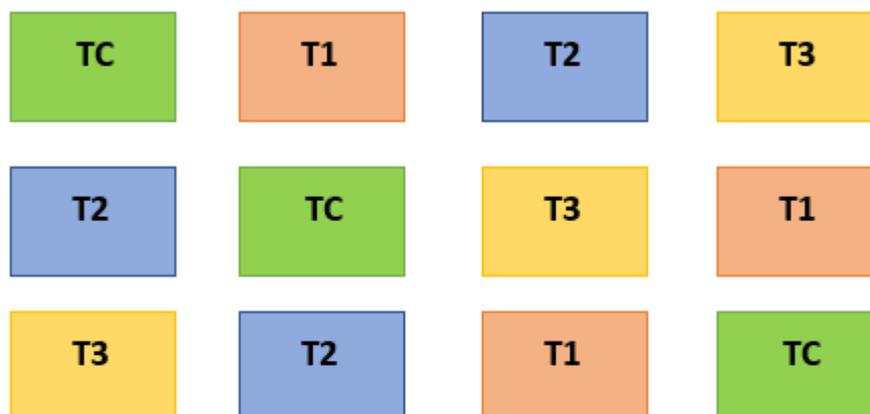
- Tilapias (*Oreochromis* sp.)

2.3 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) debido a la homogeneidad de las unidades experimentales. El modelo constó de cuatro tratamientos y tres réplicas, en los cuales se colocaron cinco unidades muestrales en cada unidad experimental. Se determinó que en el

tratamiento control (TC) se utilizó solo balanceado, en el tratamiento 1 (T1) se utilizó harina de *Lemna minor* al 5% agregada al balanceado, el tratamiento 2 (T2) se empleó harina de *Lemna minor* fermentada al 3% adicionado en el balanceado, el tratamiento 3 (T3) se utilizaron probióticos al 3% en el balanceado.

Figura 2. Croquis del experimento.



2.4 Caracterización de los Tratamientos

El factor de estudio del experimento es la harina de lenteja de agua (HLA) que fue incorporada en el alimento balanceado de la tilapia de forma directa y a través de su fermentación con bacterias ácido lácticas y levaduras.

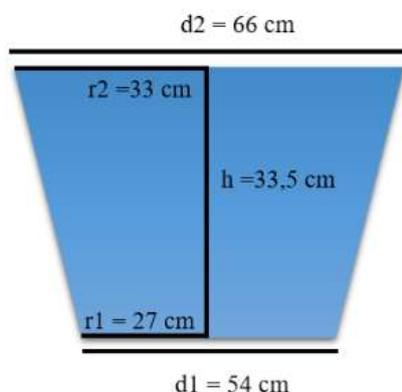
Tabla 4. Caracterización de los tratamientos.

Identificación	Contenido	Dosis de harina sin fermentar	Dosis de harina fermentada	Dosis de probióticos
TC	Balanceado	-	-	-
T1	HLA + balanceado	5%	-	-
T2	Fermento de HLA + balanceado	-	3%	-
T3	Balanceado + bacterias y levaduras	-	-	3%

2.5 Dimensiones de las Unidades Experimentales

Fueron 12 recipientes circulares con un diámetro superior de 66 cm, un diámetro inferior de 54 cm y con una altura de 33,5 cm.

Figura 3. Dimensión de la unidad experimental.



$$\text{Volumen} = \frac{1}{3} \pi \times h (r_2^2 + r_1^2 + (r_2 \times r_1))$$

$$V = \frac{1}{3} \pi \times 33,5 \text{ cm} ((66 \text{ cm})^2 + (27 \text{ cm})^2 + (66 \text{ cm} \times 27 \text{ cm}))$$

$$V = 95035 \text{ cm}^3 \times 1 \text{ L} / 1000 \text{ cm}^3$$

$$V = 95,03 \text{ L}$$

2.6 Preparación de las Unidades Experimentales

Se emplearon 12 recipientes, cada uno con una capacidad de 95 litros, como unidades experimentales. Estos recipientes se llenaron hasta el 75% de su volumen, lo que equivale a 71 litros. Cada recipiente fue cubierto con una funda plástica perforada en diferentes zonas. Además, se proporcionó oxigenación a cada unidad experimental y se colocaron 12 tubos de 4 pulgadas como refugios para los organismos.

2.7 Obtención de los Organismos

La investigación implicó la obtención de 70 peces tilapia roja con un peso promedio de 18,45 gramos. Estos procedían de un cultivo en la Parroquia La Peaña, que pertenece al Cantón Pasaje de la Provincia de El Oro, ubicada en las coordenadas 3°18'29.9"S 79°51'10.7"W.

Ilustración 5. Ubicación del cultivo de tilapia.



2.8 Aclimatación de los Peces

El proceso de aclimatación se realizó colocando a los organismos en fundas con el agua de donde se extrajeron en cada unidad experimental para igualar la temperatura gradualmente.

Por otro lado, cada 5 minutos se iba colocando agua de pozo para adaptarlos las nuevas condiciones fisicoquímicas del agua. Luego de varias semanas se observó a los organismos completamente adaptados y se empezó con el ensayo.

2.9 Alimentación

Las dietas se determinaron según el peso promedio de la biomasa, calculando de ello el 3% para su alimentación e incrementando la cantidad en base al apetito de los organismos. Se dosificó con dos raciones al día durante los 25 días.

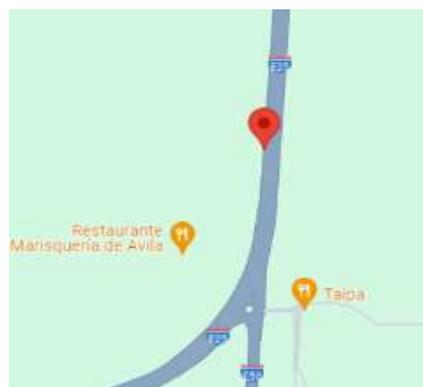
Ilustración 6. Aclimatación de las tilapias.



2.10 Obtención de la Lenteja de Agua

La especie vegetal se recolectó en un pequeño cuerpo de agua cercano a la vía Troncal de la Costa en las coordenadas 3°31'04.8"S 79°58'51.1"W.

Ilustración 7. Ubicación en donde se recolectó la lenteja de agua.



2.11 Procesamiento de la Harina de *Lemna minor*

La lenteja de agua recolectada fue limpiada y lavada repetidamente con agua, para luego ser secada en un horno a 60 °C durante un día. Posteriormente, se trituró y se guardó en una funda hermética.

Ilustración 8. Secado de la planta en estufa.



2.12 Fermentación de la Harina de *Lemna minor*

Para la fermentación, se inocularon bacterias y levaduras que, una vez activadas, se añadieron a 10 gramos de harina de *Lemna minor* hasta humedecerla. Esta mezcla se colocó en un recipiente esterilizado con tapa para evitar la contaminación. La mezcla se dejó fermentar a temperatura ambiente durante 7 días como lo indica (Herawati *et al*, 2020).

Ilustración 9. Adición de bacterias y levaduras en la harina de lenteja de agua para su fermentación.



2.13 Manejo de Unidades Experimentales

Los parámetros de calidad del agua, incluyendo el pH, la temperatura y el amonio, se midieron utilizando un test colorimétrico, un termómetro para acuarios y un test colorimétrico específico para amonio, respectivamente. Se realizaron recambios de agua diarios del 50%, y se sifonearon las heces sedimentadas en el fondo de las unidades experimentales.

2.14 Determinación de Composición Nutricional: humedad, fibra, grasa y proteína de la harina lenteja de agua sin fermentar y fermentada

2.14.1 Análisis de Humedad

Para determinar la humedad se utilizó el método (PE15-5.4-FQ) en referencia al método recomendado por la AOAC Ed20, 2016 925.10 (LACONAL, 2017).

2.14.2 Análisis de Proteína

Se determinó por el método (PE16-5.4-FQ) en referencia al método recomendado por la AOAC Ed20, 2016 923.03 (LACONAL, 2017).

2.14.3 Análisis de Grasa

El análisis fue llevado a cabo mediante el método (PE17-5.4-FQ) recomendado por la AOAC Ed20, 2016 2003.06 (LACONAL, 2017).

2.14.4 Análisis de Fibra

El análisis del contenido de fibra de las harinas fue realizado bajo el método (AOAC 978.10) (VELP, 2019).

2.15 Medición de Talla y Peso de las Tilapias

Las mediciones se realizaron al inicio y al final del experimento. Para medir la talla se utilizó una regla graduada colocada en un fondo blanco para una mejor precisión. Las tilapias de cada unidad experimental antes de ser medidas se colocaron en un recipiente pequeño y se manipularon con cuidado para reducir el estrés. Se midió cada una de las tilapias desde el extremo de la cabeza hasta la aleta caudal.

Después de la medición de talla de cada tilapia se pesó, para ello se utilizó una balanza gramera y un recipiente circular previamente tarado para una mejor lectura, además, se evitó el exceso de agua en las tilapias antes de ser pesadas para evitar error en el peso, luego de ser pesadas se colocaron en las unidades experimentales correspondientes.

2.16 Análisis Microbiológico

Se realizaron análisis microbiológicos para determinar la carga bacteriana en las muestras de intestino de tilapia roja. Para ello, se utilizaron las técnicas de diluciones seriadas y siembra en placa. Se seleccionaron tres organismos al azar del stock inicial para obtener muestras de intestino y se maceró para tener una mezcla homogénea y luego se tomó 1 g. La muestra se diluyó 4 veces sucesivamente en tubos de ensayo con 9 mL de solución salina al 1% autoclavada. Utilizando las diluciones 1/1000 y 1/10000, se procedió a la siembra por triplicado en las placas previamente preparadas y esterilizadas con luz UV. Finalizado la siembra se cubrió las placas con una envoltura de plástico y se colocaron en la incubadora durante 24 horas, posteriormente se realizó el conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de cada placa.

Luego de 25 días de haber suministrado las dietas suplementadas se procedió con el segundo análisis microbiológico seleccionando 3 organismos de forma alzar de cada unidad experimental y se procedió a realizar las diluciones 1/1000 y 1/10000 para su siembra respectiva.

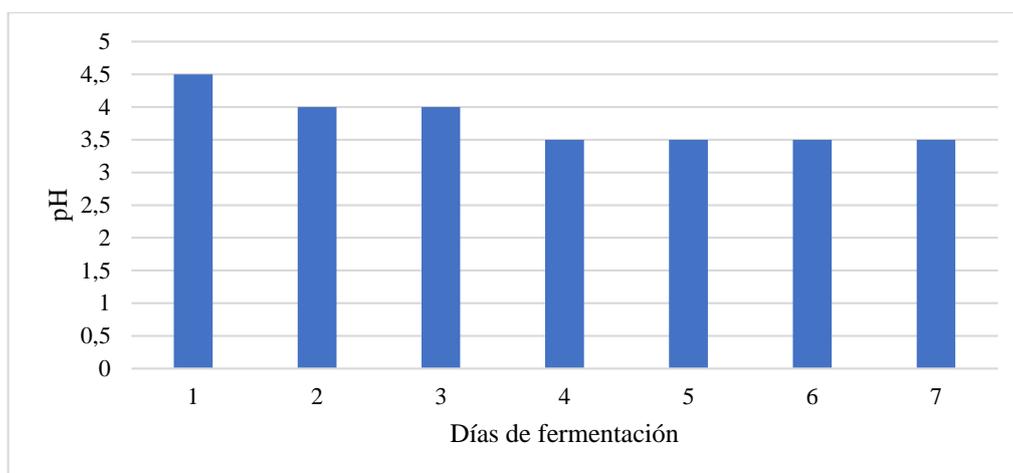
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultados

3.1.1 Fermentación de la Harina de Lemna minor

En la figura 4 se evidencia que los niveles de pH durante la fermentación se mantuvieron constantes durante los 7 días. Además, se evidenció la formación de gas y no se obtuvieron malos olores del producto fermentado, mismo que se mantuvo con un olor agradable y sin presencia de hongos.

Figura 4. Medición del pH durante la fermentación de la harina de Lemna minor.



3.1.2 Análisis de la Siembra de Muestras de Intestino de Tilapia

3.1.2.1 Conteo de Bacterias Totales. En la tabla 5 del análisis de varianza (ANOVA) de un factor se observa que los tratamientos y el control no tienen diferencias significativas debido a que el p-valor obtenido (0,751) es mayor que alfa (0,05).

Tabla 5. ANOVA de un factor sobre las bacterias totales en muestras de intestino de tilapia.

ANOVA					
UFC (bacterias totales) /g de intestino de tilapia					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	30628125000,000	3	10209375000,000	,405	,751
Dentro de grupos	504787500000,000	20	25239375000,000		
Total	535415625000,000	23			

Los resultados de la siembra de muestras de intestino de tilapia utilizando el agar nutritivo como medio de cultivo se observa que la concentración de colonias antes de aplicar los tratamientos fue de $5,52 \times 10^7$. Por otro lado, los resultados al final del ensayo se observa un número de colonias menor en comparación con el control inicial registrado, teniendo una

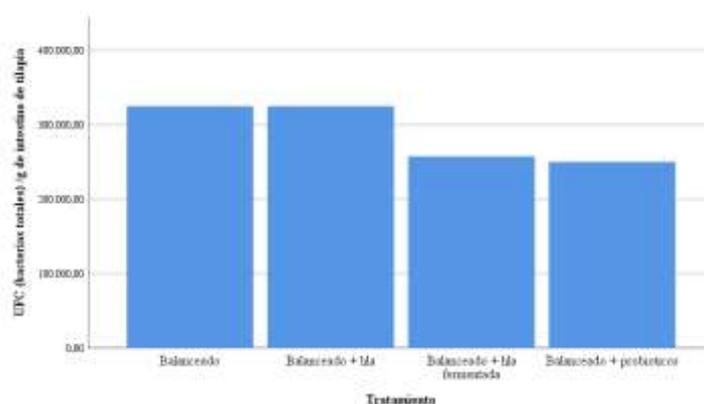
concentración de $2,50 \times 10^5$ y $2,58 \times 10^5$ en los tratamientos 2 y 3 respectivamente. Mientras que el tratamiento 1 y el control tuvieron una concentración de $3,25 \times 10^5$ (Tabla 6).

Tabla 6. Comparación del efecto de los tratamientos sobre la carga de bacterias totales.

Tratamientos	Concentración (UFC / g)
Control (25 días)	3,25E+05
Tratamiento 1 (25 días)	3,25E+05
Tratamiento 2 (25 días)	2,58E+05
Tratamiento 3 (25 días)	2,50E+05

En la figura 5 se observa que los tratamientos 2 y 3 que contenían probióticos y el fermento son ligeramente menor al control y el tratamiento 1 el cual solo tenía harina de *Lemna minor* incluida en el balanceado.

Figura 5. Efecto de los tratamientos sobre las bacterias totales en el intestino de la tilapia.



3.1.2.2 Conteo de *Pseudomonas sp.* En la tabla 7 del análisis de varianza (ANOVA) de un factor se observa que el p-valor obtenido fue de 0,0001 siendo menor que el valor de alfa (0,05) indicando la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

Tabla 7. ANOVA de un factor sobre las *Pseudomonas sp.* en muestras de intestino de tilapia.

ANOVA					
UFC (<i>Pseudomonas sp.</i>) /g de intestino de tilapia					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	399750000000,000	3	133250000000,000	11,574	0,0001
Dentro de grupos	230250000000,000	20	11512500000,000		
Total	630000000000,000	23			

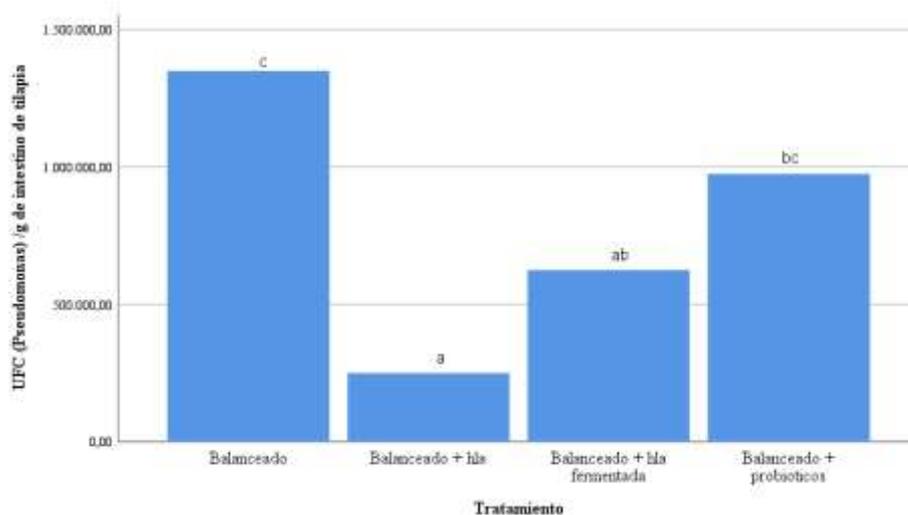
En el control realizado al principio del ensayo se obtuvo una concentración de $7,38 \times 10^7$ utilizando el agar GSP como medio de cultivo. Mientras que los resultados de las concentraciones de los ensayos finales en donde los tratamientos 1,2 y 3 ($2,5 \times 10^5$, $6,25 \times 10^5$ y $9,75 \times 10^5$) tuvieron mayor reducción de *Pseudomonas* sp. en comparación con el control ($1,35 \times 10^6$) (Tabla 8).

Tabla 8. Comparación del efecto de los tratamientos sobre la carga de *Pseudomonas* sp.

Tratamientos	Concentración (UFC / g)
Control (25 días)	1,35E+06
Tratamiento 1 (25 días)	2,50E+05
Tratamiento 2 (25 días)	6,25E+05
Tratamiento 3 (25 días)	9,75E+05

En la figura 6 se observa que los tratamientos difieren al control siendo el tratamiento 1 más eficaz en cuanto a la reducción de *Pseudomonas* sp. seguido del tratamiento 2 y del tratamiento 3 respectivamente.

Figura 6. Efecto de los tratamientos sobre la carga de *Pseudomonas* sp. en el intestino de la tilapia.



* Letras diferentes indican diferencias altamente significativas entre los tratamientos en función de la variable de estudio según Tukey.

3.1.2.3 Conteo de *Aeromonas* sp. En la tabla 9 del análisis de varianza (ANOVA) de un factor se obtuvo un valor menor que alfa (0,05) indicando la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

Tabla 9. ANOVA de un factor sobre las *Aeromonas sp.* en muestras de intestino de tilapia.

ANOVA					
UFC (<i>Aeromonas</i>) /g de intestino de tilapia					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2367550312500000,000	3	789183437500000,000	19,912	0,000003
Dentro de grupos	792668750000000,000	20	39633437500000,000		
Total	3160219062500000,000	23			

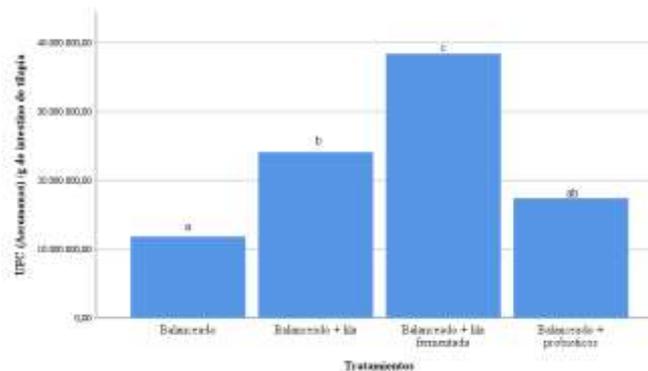
En la tabla 10 se puede observar que la concentración inicial registrada fue de 8×10^5 . A diferencia de los datos obtenidos en el ensayo final en donde todos los tratamientos incluido el control mostraron un crecimiento en la concentración de *Aeromonas sp.* que van desde $1,18 \times 10^7$ a $3,84 \times 10^7$.

Tabla 10. Comparación del efecto de los tratamientos sobre la carga de *Aeromonas sp.*

Tratamientos	Concentración (UFC / g)
Control (25 días)	1,18E+07
Tratamiento 1 (25 días)	2,41E+07
Tratamiento 2 (25 días)	3,84E+07
Tratamiento 3 (25 días)	1,74E+07

En la figura 7 el número de colonias al final del ensayo se evidencia un incremento en cuanto a la carga de *Aeromonas sp.* en las muestras de intestino de tilapia siendo el tratamiento 3 el cual tuvo un incremento de $3,84 \times 10^7$. Por otro lado, el control registra una concentración de $1,18 \times 10^7$.

Figura 7. Efecto de los tratamientos sobre la carga de *Aeromonas sp.*

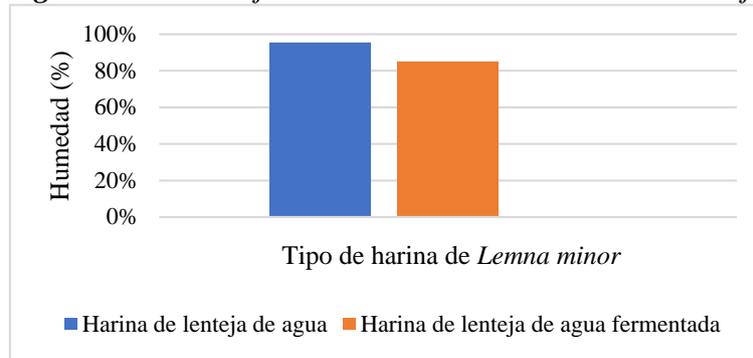


* Letras diferentes indican diferencias altamente significativas entre los tratamientos en función de la variable de estudio (según Tukey).

3.1.3 Porcentaje de la Composición Nutricional de la harina de Lemna minor sin fermentar y fermentada

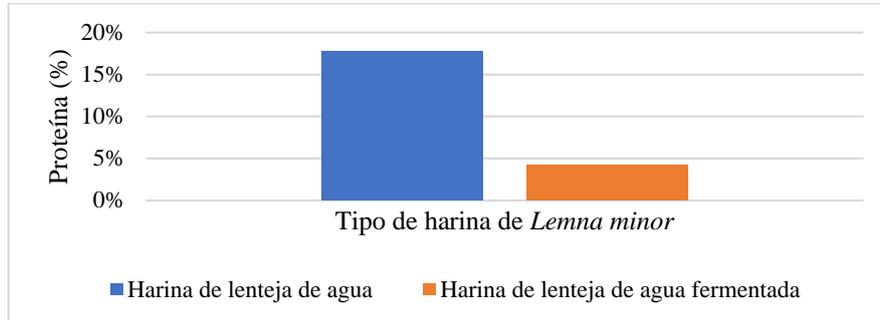
3.1.3.1 Humedad. En la figura 8 se observa el valor obtenido de humedad de ambas muestras. La harina de *Lemna minor* presenta un contenido del 95% de humedad, mientras que la harina de *Lemna minor* fermentada presenta un 85%.

Figura 8. Porcentaje de humedad de las harinas de lenteja de agua.



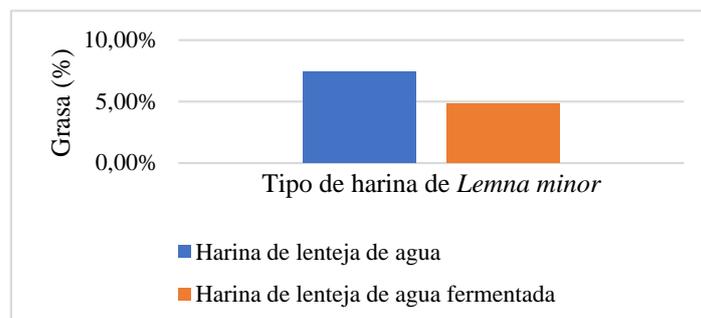
3.1.3.2 Proteína. La figura 9 muestra el contenido de proteína de ambas muestras. La harina de *Lemna minor* presenta un contenido de 17,75%, mientras que la harina de *Lemna minor* fermentada presenta un 4,25% de proteína.

Figura 9. Porcentaje de proteína de las harinas de lenteja de agua.



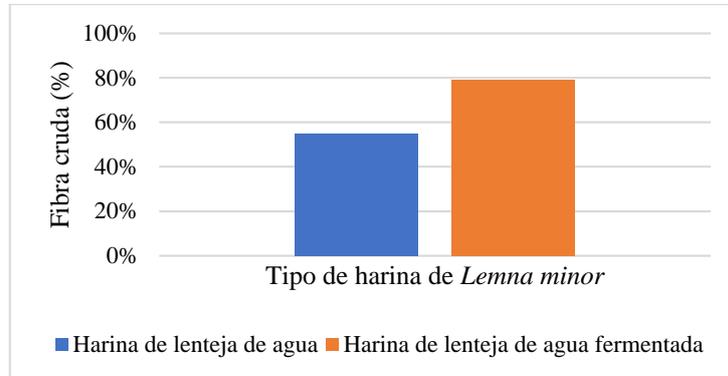
3.1.3.3 Grasa. La figura 10 muestra los resultados obtenidos de grasa de las muestras. La harina de *Lemna minor* presenta un contenido de 7,44%, mientras que la harina de *Lemna minor* fermentada presenta un 5% de grasa.

Figura 10. Porcentaje de grasa de las harinas de lenteja de agua.



3.1.3.4 Fibra. En la figura 11 se observa el porcentaje obtenido de ambas muestras. La harina de *Lemna minor* presenta un contenido de 55% de fibra, mientras que la harina de *Lemna minor* fermentada presenta un contenido de 79,1%.

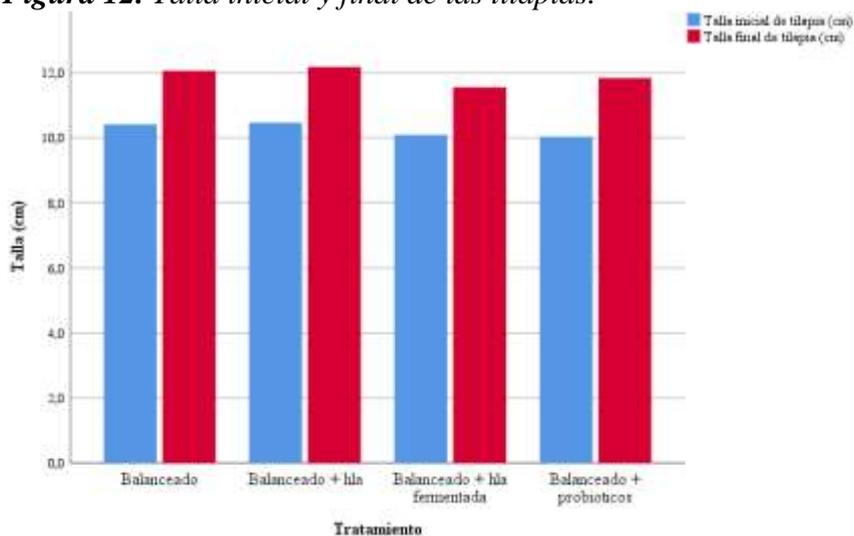
Figura 11. Porcentaje de fibra de las harinas de lenteja de agua.



3.1.4 Índice de Talla y Peso

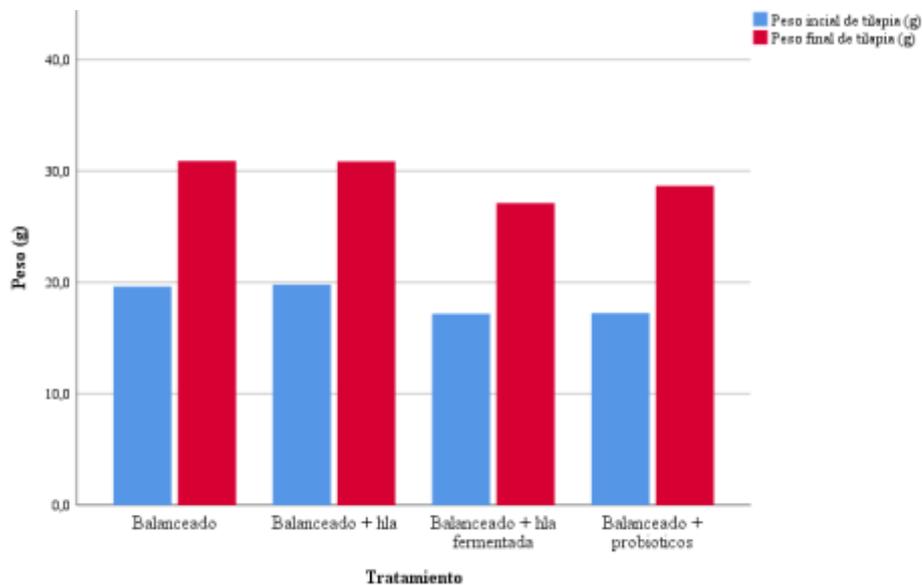
3.1.4.1 Talla de las Tilapias. En la figura 12 se observa la talla promedio de las tilapias en los diferentes tratamientos experimentales. Al inicio del experimento la talla promedio en el tratamiento control (balanceado) fue de 10,4 cm, en el tratamiento 1 (Balanceado + hla) fue de 10,5 cm, en el tratamiento 2 (Balanceado + hla fermentada) fue de 10,1 cm y tratamiento 3 (Balanceado + probióticos) fue de 10,0 cm. La talla promedio final de la tilapia aumento significativamente en los tratamientos control y tratamiento 1, alcanzando 12,1 cm y 12,2 cm, respectivamente. En el tratamiento 2 y tratamiento 3 la talla promedio fue de 11,6 cm y 11,8 cm.

Figura 12. Talla inicial y final de las tilapias.



3.1.4.2 Peso de las Tilapias. En la figura 13 se presenta el peso promedio de las tilapias en los diferentes tratamientos experimentales. El peso promedio inicial para el tratamiento control (balanceado) fue de 19,6 g, para el tratamiento 1 (Balanceado + hla) fue de 19,8 g, para el tratamiento 2 (Balanceado + hla fermentada) fue de 17,2 g y tratamiento 3 (Balanceado + probióticos) fue de 17,2 g. Al final del experimento se muestra un aumento en los tratamientos control y tratamiento 1 con un peso promedio final de 30,9 g, mientras que el tratamiento 2 y tratamiento 3 el peso promedio fue de 27,1 y 28,7 g, respectivamente.

Figura 13. *Peso inicial y final de las tilapias.*



3.2 Discusión

El proceso de la fermentación tiene un papel importante de la calidad nutritiva de las proteínas de origen animal y vegetal. Las fuentes de proteínas pueden ser tratadas con microorganismos para conservar sus nutrientes de modo que se puedan incorporar a los alimentos acuícolas, esto reduciría los costos de la alimentación y la contaminación del medio ambiente (Dawood y Koshio, 2020). Durante la fermentación es evidente la disminución del pH por acción de las bacterias y levaduras que acidifican rápidamente la materia prima en ácidos orgánicos (ácido láctico, ácido acético, ácido succínico), etanol y glicerol (Kołożyn-Krajewska y Dolatowski, 2012; Liu *et al.*, 2015).

Los resultados obtenidos en cuanto a la caracterización de las harinas en el presente ensayo difieren con los obtenidos por Herawati *et al.*, (2020) que obtuvieron un contenido proteico, grasa y fibra en *Lemna minor* sin fermentar del 23,47%, 3,99% y 29,92% respectivamente. Además, los mismos investigadores caracterizaron la harina de *Lemna minor*

fermentada, donde los resultados también difieren a nuestro ensayo. Igualmente, Cruz *et al.*, (2011), registraron un contenido de proteína de *Lemna minor* fermentada mayor a la presentada en este estudio. Esto puede deberse a los nutrientes presentes en el sitio de recolección como mencionan Stadtlander *et al.*, (2022) que niveles adecuados de nitrógeno inciden en la calidad nutricional proteica.

Samtiya *et al.*, (2021) mencionan que, en algunas harinas fermentadas, las bacterias también pueden utilizar aminoácidos como nutrientes, con la consiguiente disminución del contenido proteínico, así como de su calidad. La energía requerida para el desarrollo bacteriano es obtenida a partir de los carbohidratos. Sin embargo, la utilización de péptidos y aminoácidos es eficaz para la síntesis proteica microbiana (Castillo-Lopez y Domínguez-Ordóñez, 2019).

Los resultados del presente ensayo evidencian una disminución en la carga bacteriana total al final del ensayo que difieren de otras investigaciones realizadas con la adición de fermentos de harinas de origen vegetal los cuales tienden a incrementar el número de bacterias totales en el intestino. Abdul *et al.*, (2021) encontraron que la adición de pulpa de soya fermentada al 50% en *Clarias gariepinus* aumenta la carga bacteriana total en el intestino ($1,37 \times 10^9$) en comparación con el control ($6,43 \times 10^9$). Asimismo, Nandi *et al.*, (2023) informan que la suplementación de harina de espinaca de agua fermenta al 100%, en la dieta de *Heteropneustes fossilis* incrementan la carga de bacterias totales en el tracto intestinal ($15,90 \times 10^9$) en comparación con el control ($1,44 \times 10^9$). Esto puede deberse a que el medio de cultivo, es decir el agar nutritivo podría no ser es el más adecuado para el crecimiento de todas las bacterias aeróbicas presentes en el intestino y además cada harina vegetal puede tener mayor cantidad de proteína y de minerales que ayudan a un mejor crecimiento bacteriano.

Por otro lado, los resultados del número de *Pseudomonas* sp. indican una disminución al final del ensayo a diferencia de las *Aeromonas* sp. que incrementaron. Esto podría atribuirse a que las *Aeromonas* sp. tienen la capacidad de fermentar carbohidratos y son anaerobios facultativos; por el contrario, las *Pseudomonas* sp. son bacterias aerobias no fermentativas (Grim, 2013; Loveday *et al.*, 2014).

Los resultados del presente ensayo en lo que respecta la talla y el peso de las tilapias alimentadas con las dietas enriquecidas se asemejan a las obtenidas por Iskandar *et al.*, (2019) los cuales señalan que las dietas con alto contenido en fibra provocan mayor requerimiento energético en los peces para digerir la celulosa, y por lo tanto se vería una disminución en el crecimiento.

IV. CONCLUSIONES

- Se elaboró un fermento de harina de *Lemna minor* utilizando probióticos comerciales en donde se obtuvo como resultado un producto con un pH bajo, demostrando que es posible hacer un ingrediente fermentado a partir de harinas de origen vegetal.
- En el análisis proximal de la harina de *Lemna minor* con y sin fermentar los resultados difieren de otros investigadores ya que estos van a depender de la calidad de nutrientes que existen en el medio y también del tipo de bacterias que se utilicen para su fermentación.
- El efecto de las dietas enriquecidas sobre la carga de bacterias totales refleja que no existe una influencia sobre su concentración.
- La carga de *Pseudomonas* sp. fue de lo que indica que hubo una disminución con respecto al control que fue de $2,5 \times 10^5$. Por otro lado, la carga de *Aeromonas* sp. aumentó significativamente en el tratamiento 3 (balanceado más la harina de *Lemna minor* fermentada) alcanzando una concentración de $3,84 \times 10^7$ a diferencia de los demás tratamientos y el control ($1,77 \times 10^7$ en promedio).
- En relación a la talla y el peso promedio de las tilapias se demuestra que la adición de harina de *Lemna minor* fermentada o probióticos al balanceado no incide significativamente en el crecimiento de los organismos. Sin embargo, el uso de la lenteja de agua sin fermentar aumenta levemente la talla de las tilapias.
- En base a nuestros resultados, se concluye que el fermento de la harina de *Lemna minor* no inciden en la carga bacteriana, así mismo con el peso y la talla en las tilapias por lo que es preferible utilizar solo balanceado.

V. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones sobre la forma más adecuada de adicionar la harina de origen vegetal en las dietas acuícolas.
- Investigar si dosis inferiores de harina de *Lemna minor* en las dietas para peces puede ayudar a un mayor crecimiento.
- Buscar alternativas de materias primas de origen vegetal que ayuden como prebióticos para mejorar el cultivo de peces.
- Buscar otros productos probióticos comerciales que ayuden a fermentar las harinas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul Kari, Z., Kabir, M. A., Mat, K., Rusli, N. D., Razab, M. K. A. A., Ariff, N. S. N. A., Edinur, H. A., Rahim, M. Z. A., Pati, S., Dawood, M. A. O., y Wei, L. S. (2021). The possibility of replacing fish meal with fermented soy pulp on the growth performance, blood biochemistry, liver, and intestinal morphology of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture Reports*, 21, 100815. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100815>
- Acosta, K., Appenroth, K. J., Borisjuk, L., Edelman, M., Heinig, U., Jansen, M. A. K., Oyama, T., Pasaribu, B., Schubert, I., Sorrels, S., Sowjanya Sree, K., Xu, S., Michael, T. P., y Lam, E. (2021). Return of the Lemnaceae: duckweed as a model plant system in the genomics and postgenomics era. *Plant Cell*, 33(10), 3207-3234. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab189>
- Ahmed, N., y Thompson, S. (2019). The blue dimensions of aquaculture: A global synthesis. *Science of the Total Environment*, 652, 851-861. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.163>
- Alcántar-Vázquez, J. P., Santos-Santos, C., Moreno-de la Torre, R. y C. Antonio-Estrada. (2014). Manual para la producción de supermachos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). UNPA-PIFI, Oaxaca. México. https://www.researchgate.net/publication/273755425_Manual_para_la_produccion_de_supermachos_de_tilapia_del_Nilo_Oreochromis_niloticus
- Amenyogbe, E. (2023). Application of probiotics for sustainable and environment-friendly aquaculture management - A review. *Cogent Food y Agriculture*, 9(1), 1-23. <https://doi.org/10.1080/23311932.2023.2226425>
- Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., y Momin, A. (2014). *Lactobacillus acidophilus*: Characterization of the Species and Application in Food Production. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(9), 1241-1251. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.621169>
- Baltazar, P. M. (2007). La Tilapia en el Perú: Acuicultura, mercado, y perspectivas. *Revista Peruana de Biología*, 13(3), 267-273. <https://doi.org/10.15381/rpb.v13i3.2355>

- Barman, D., Nen, P., Mandal, S., y Kumar, V. (2013). Immunostimulants for Aquaculture Health Management. *Journal of Marine Science: Research y Development*, 03(03). <https://doi.org/10.4172/2155-9910.1000134>
- Bhat, R. A., Tandel, R. S., y Pandey, P. K. (2022). Alternatives to antibiotics for combating the antimicrobial resistance in aquaculture. *Indian Journal of Animal Health*, 61(2), 01-18. <https://doi.org/10.36062/ijah.2022.spl.01322>
- Butt, R. L., y Volkoff, H. (2019). Gut microbiota and energy homeostasis in fish. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 6-8. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00009>
- Castillo-Lopez, E., y Domínguez-Ordóñez, M. G. (2019). Factors affecting the ruminal microbial composition and methods to determine microbial protein yield. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 10(1), 120-148. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i1.4547>
- Chizhayeva , A., Amangeldi, A., Oleinikova, Y., Alybaeva, A., y Sadanov, A. (2022). Lactic acid bacteria as probiotics in sustainable development of aquaculture. *Aquatic Living Resources*, 35(10), 1-17. <https://doi.org/10.1051/alr/2022011>
- Cipriani, L. A., Ha, N., De Oliveira, N. S., y Perez Fabregat, T. E. (2021). Does ingestion of duckweed (*Lemna minor*) improve the growth and productive performance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) given formulated feeds in a recirculation system? *Aquaculture International*, 29, 2197–2205. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00743-0>
- Cruz, Y., Kijora, C., Wedler, E., Danier, J., y Schulz, C. (2011). Fermentation properties and nutritional quality of selected aquatic macrophytes as alternative fish feed in rural areas of the Neotropics. *Livestock Research for Rural Development*, 23(11). https://www.researchgate.net/publication/259647421_Fermentation_properties_and_nutritional_quality_of_selected_aquatic_macrophytes_as_alternative_fish_feed_in_rural_areas_of_the_Neotropics
- Dawood, M. A. O., y Koshio, S. (2020). Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 987-1002. <https://doi.org/10.1111/raq.12368>

- Debnath, S. C., McMurtrie, J., Temperton, B., Delamare-Deboutteville, J., Mohan, C. V., y Tyler, C. R. (2023). Tilapia aquaculture, emerging diseases, and the roles of the skin microbiomes in health and disease. *Aquaculture International* (Vol. 31, Número 5). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01117-4>
- Ekperusi, A. O., Sikoki, F. D., y Nwachukwu, E. O. (2019). Application of common duckweed (*Lemna minor*) in phytoremediation of chemicals in the environment: State and future perspective. *Chemosphere*, 223, 285-309. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.025>
- El-Sayed, A. F. M. (2020). *Tilapia Culture: Second edition*. Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128165096050011>
- El-Sayed, A. F. M., y Kawanna, M. (2008). Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. *Aquaculture Research*, 39(6), 670-672. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01915.x>
- El-Sayed. (2020). Taxonomy and basic biology. *Tilapia Culture*. (pp. 21-31). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816509-6.00002-1>
- FAO. (2020). *Aquaculture growth potential in Latin America and the Caribbean (LAC)*. <https://www.fao.org/3/ca8180en/ca8180en.pdf>
- FAO. (2022). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022*. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- García, M. G., Morales, T. K., Ascacio, J. A., Chávez, M. L., Flores, A. C., y Sepúlveda, L. (2021). Application of lactic acid bacteria in fermentation processes to obtain tannases using agro-industrial wastes. *Fermentation*, 7(2). <https://doi.org/10.3390/fermentation7020048>
- González-Rentería, M., Monroy-Dosta, M. C., Guzmán-García, X., Hernández-Calderas, I., y A., R.-L. M. (2020). Antibacterial activity of *Lemna minor* extracts against *Pseudomonas fluorescens* and safety evaluation in a zebrafish model. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27, 3465-3473. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.043>
- Goswami, R. K., JaiGopal Sharma, J., Avanish Kumar Shrivastav, A. K., Guddu , K., Glencross, B. D., Tocher, D. R., y Chakrabarti, R. (2022). Effect of *Lemna minor*

- supplemented diets on growth, digestive physiology and expression of fatty acids biosynthesis genes of *Cyprinus carpio*. *Scientific Reports*, 12, 3711. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07743-x>
- Grim, C. J. (2013). *Aeromonas* and *Plesiomonas*. En *Foodborne Infections and Intoxications* (Fourth Edition). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416041-5.00014-7>
- Guan, W., Li, K., y Li, K. (2022). Bacterial communities in co-cultured fish intestines and rice field soil irrigated with aquaculture wastewater. *AMB Express*, 12(1), 132. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01475-x>
- Gülçin, I., Kireççi, E., Akkemik, E., Topal, F., y Hisar, O. (2010). Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: Duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae). *Turkish Journal of Biology*, 34(2), 175-188. <https://doi.org/10.3906/biy-0806-7>
- Herawati, V., Pinandoyo, Darmanto, Y. S., Rismaningsih, N., Windarto, S., y Radjasa, O. K. (2020). The effect of fermented duckweed (*Lemna minor*) in feed on growth and nutritional quality of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biodiversitas*, 21(7), 3350-3358. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210759>
- Hernández-Sánchez, F., y Aguilera-Morales, E. (2012). Nutritional Richness and Importance of the Consumption of Tilapia in the Papaloapan Region (Riqueza nutricional e importancia del consumo de la mojarra tilapia en la región del Papaloapan). *Revista electrónica de Veterinaria*, 13(6), 1-12. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060612/061205.pdf>
- Homidchonova, S. H., y Mahmudova, N. A. (2022). Bioecological and physiological-biochemical features of cassocks (Lemnaceae) in culture. *Texas Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 10, 27-31. <https://zienjournals.com/index.php/tjabs/article/view/2695>
- Iskandar, I., Andriani, Y., Rostika, R., Zidni, I., y Riyanti, N. A. (2019). Effect of Using Fermented *Lemna* sp. in Fish Feed on Growth Rate of Nile Carp (*Osteochilus hasselti*). *World News of Natural Sciences*, 157-166. <http://www.worldnewsnaturalsciences.com/wp-content/uploads/2019/07/WNOFNS-26-2019-157-166.pdf>

- Jamil, R., Wei, C. R., Khan, M. R. J., Khan, A. M. A., Faisal, M., Awais, M., Asghar, M. I., y Tahir, U. Bin. (2023). Integration of Plant-Based Proteins into Aquaculture Diets for Sustainable Fish Growth and Wellness. *Complementary and Alternative Medicine: One Health Perspective*, 204-214. <https://doi.org/10.61748/cam.2023/028>
- Kandikatla, G. A., y Kondamudi, R. B. (2016). Effect of Organic Acids and Probiotics on the Pond Ecosystem in the Culture Ponds of *Litopenaeus vannamei*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(6), 314-330. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.506.036>
- Kołożyn-Krajewska, D., y Dolatowski, Z. J. (2012). Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochemistry*, 47(12), 1761-1772. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.09.017>
- Kutschera, U., y Niklas, K. J. (2015). Darwin-Wallace Demons: Survival of the fastest in populations of duckweeds and the evolutionary history of an enigmatic group of angiosperms. *Plant Biology*, 17(s1), 24-32. <https://doi.org/10.1111/plb.12171>
- LACONAL. (2017). Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Universidad Técnica de Ambato. https://www.acreditacion.gob.ec/wp-content/uploads/2017/08/LACONAL-susp_15-agosto2017.pdf
- Leng, R.A., Stambolie, J.H. and Bell, R. (1995). Duckweed a potential high protein feed resource for domestic animals and fish. *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 7, no. 1, New England. <https://www.lrrd.org/lrrd7/1/3.htm>
- León, R., Pernía Santos, B. M., Sigüencia, R., Franco, S., Noboa, A., y Cornejo, X. (2018). Potencial de plantas acuáticas para la remoción de coliformes totales y *Escherichia coli* en aguas negras. *Enfoque UTE*, 9(4), 131-144. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v9n4.286>
- Leroy, F., y De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2), 67-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Liebers, M., Hommel, E., Grübler, B., Danehl, J., Offermann, S., y Pfannschmidt, T. (2023). Photosynthesis in the biomass model species *Lemna minor* displays plant-conserved

- and species-specific features. *Plants*, 12(13), 2442. <https://doi.org/10.3390/plants12132442>
- Lingam, S. S. R., Kumar, S. S. J., Chindambaram, P., Aanand, S., Velmurugan, P., y Venkatrao, B. R. (2021). An insight to red tilapia breeding and culture: A farmer advisory. *Aquaculture*, 25(2), 21-26. <https://www.researchgate.net/publication/352864727>
- Loveday, H. P., Wilson, J. A., Kerr, K., Pitchers, R., Walker, J. T., y Browne, J. (2014). Association between healthcare water systems and *Pseudomonas aeruginosa* infections: A rapid systematic review. *Journal of Hospital Infection*, 86(1), 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2013.09.010>
- Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., Zhao, F., Zhan, J., y Huang, W. (2015). Effect of Initial PH on Growth Characteristics and Fermentation Properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 80(4), M800-M808. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12813>
- Magid, A.M., Babiker, M.M. (1975). Oxygen consumption and respiratory behaviour of three Nile fishes. *Hydrobiologia* 46, 359–367. <https://doi.org/10.1007/BF00028279>
- Makori, A. J., Abuom, P. O., Kapiyo, R., Anyona, D. N., y Dida, G. O. (2017). Effects of water physico-chemical parameters on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth in earthen ponds in Teso North Sub-County, Busia County. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s41240-017-0075-7>
- Martínez, P., Ibáñez, A. L., Monroy Hermosillo, O. A., y Ramírez Saad, H. C. (2012). Use of Probiotics in Aquaculture. *ISRN Microbiology*, 2012, 1-13. <https://doi.org/10.5402/2012/916845>
- Maulini, R., Sahlinal, D., y Arifin, O. (2022). Monitoring of pH, Amonia (NH₃) and Temperature Parameters Aquaponic Water in the 4.0 Revolution Era. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1012(1), 012087. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1012/1/012087>
- Mohan, M., Konduri, A., Swapna, M., Sravani, R. S., y Kisku, C. (2021). Importance of Dissolved Oxygen in Aquaculture Pond. *Just Aquaculture*, 2(3), 1-7. <https://justagriculture.in/files/newsletter/2021/november/4.%20Importance%20Of%20Dissolved%20Oxygen%20In%20Aquaculture%20Pond.pdf>

- Mukherjee, R., Chakraborty, R., y Dutta, A. (2016). Role of fermentation in improving nutritional quality of soybean meal - A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(11), 1523-1529. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0627>
- Mustofa, A. G., Ardiansyah, Wahidah, S., Mulyati, Hasniar, y Indrayani. (2022). Use of duckweed (*Lemna minor*) harvested from IRAS as a partial replacement for fishmeal proteins in barramundi (*Lates calcarifer*) diets. *AAAL Bioflux*, 15(4), 1663-1674. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20220351964>
- Nandi, S. K., Suma, A. Y., Rashid, A., Kabir, M. A., Goh, K. W., Abdul Kari, Z., Van Doan, H., Zakaria, N. N. A., Khoo, M. I., y Seong Wei, L. (2023). The Potential of Fermented Water Spinach Meal as a Fish Meal Replacement and the Impacts on Growth Performance, Reproduction, Blood Biochemistry and Gut Morphology of Female Stinging Catfish (*Heteropneustes fossilis*). *Life*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/life13010176>
- Naseem, S., Bhat, S. U., Gani, A., y Bhat, F. A. (2020). Perspectives on utilization of macrophytes as feed ingredient for fish in future aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 282-300. <https://doi.org/10.1111/raq.12475>
- Novita, H., Nugraha, M. F. I., Firmania Kn, R., Fadjar, M., y Radjamuddin, M. A. L. (2021). Evaluation of crude ethanolic extract of aquatic plants as inhibition zone against *Flavobacterium columnare*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 800(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/800/1/012018>
- Okomoda, V. (2012). Growth performance of *Oreochromis niloticus* fed duckweed (*Lemna minor*) based diets in outdoor hapas. *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture.*, 2(4), 61-65. https://www.researchgate.net/publication/291336062_Growth_performance_of_Oreochromis_niloticus_fed_duckweed_Lemna_minor_based_diets_in_outdoor_hapas
- Opiyo, M. A., Muendo, P., Mbogo, K., Ngugi, C. C., Charo-Karisa, H., Orina, P., Leschen, W., Glencross, B. D., y Tocher, D. R. (2022). Inclusion of duckweed (*Lemna minor*) in the diet improves flesh omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid profiles but not the growth of farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Feed Science and Technology*, 292, 20-24. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115442>

- Pandey, G., Sharma, M., y Mandloi, A. K. (2012). Medicinal plants useful in fish diseases. *Plant Archives*, 12(1), 1-4. https://www.researchgate.net/publication/270173104_Medicinal_plants_useful_in_fish_diseases
- Paul, I., Panigrahi, A. K., y Datta, S. (2020). Influence of nitrogen cycle bacteria on nitrogen mineralisation, water quality and productivity of freshwater fish pond: A review. *Asian Fisheries Science*, 33(2), 145-160. <https://doi.org/10.33997/j.afs.2020.33.2.006>
- Pawar, N. A., Prakash, C., Kohli, M. P. S., Jamwal, A., Dalvi, R. S., Devi, B. N., Singh, S. K., Gupta, S., Lende, S. R., Sontakke, S. D., Gupta, S., y Jadhao, S. B. (2023). Fructooligosaccharide and *Bacillus subtilis* synbiotic combination promoted disease resistance, but not growth performance, in fish. *Scientific Reports*, 13(1), 1-18. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38267-7>
- Pékala-Safińska, A. (2018). Contemporary threats of bacterial infections in freshwater fish. *Journal of Veterinary Research*, 62(3), 261–267. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2018-0037>
- Pepi, M., y Focardi, S. (2021). Antibiotic-resistant bacteria in aquaculture and climate change: A challenge for health in the mediterranean area. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11). <https://doi.org/10.3390/ijerph18115723>
- Perdomo, D., Corredor, Z., y Ramírez, L. (2012). Características físico-químicas y morfométricas en la crianza por fases de la tilapia roja (*Oreochromis* spp.) en una zona cálida tropical. *Zootecnia Tropical*, 30(1), 99-108. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692012000100011
- Pereira, W. A., Mendonça, C. M., Urquiza, A. V., Marteinsson, V. Þ., LeBlanc, J. G., Cotter, P. D., . . . Oliveira, R. P. (2022). Use of probiotic bacteria and bacteriocins as an alternative to antibiotics in aquaculture. *Microorganismos*, 10, 1-22. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091705>
- Regni, L., Del Buono, D., Miras-Moreno, B., Senizza, B., Lucini, L., Trevisan, M., Venturi, D. M., Costantino, F., & Proietti, P. (2021). Biostimulant effects of an aqueous extract of duckweed (*Lemna minor* L.) on physiological and biochemical traits in the olive tree. *Agriculture (Switzerland)*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/agriculture11121299>

- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sarter, S., Sasal, P., y Caruso, D. (2021). Moving towards more sustainable aquaculture practices: a meta-analysis on the potential of plant-enriched diets to improve fish growth, immunity and disease resistance. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 537-555. <https://doi.org/10.1111/raq.12485>
- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sasal, P., y Saulnier, D. (2017). Use of medicinal plants in aquaculture. *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish*. <https://doi.org/10.1002/9781119152125.ch9>
- Reyes-Trigueros, L., Monroy-Dosta, M. del C., Torres-Ochoa, E., Cortés-Sánchez, A. D. J., y Espinosa Chaurand, L. D. (2023). Parámetros reproductivos en la producción de crías tilapia *Oreochromis niloticus*: revisión. *La Granja*, 38(2), 124-137. <https://doi.org/10.17163/lgr.n38.2023.09>
- Ringo, E., Van Doan, H., Lee, S. H., Soltani, M., Hoseinifar, S. H., Harikrishnan, R., y Song, S. K. (2020). Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, 129(1), 116-136. <https://doi.org/10.1111/jam.14628>
- Romano, N., y Nurul, S. (2014). Application of dietary organic acids in aquaculture to disease management and fish growth. *Perspectives of Fisheries and Aquaculture in Malaysia*. https://www.researchgate.net/publication/349710234_Application_of_dietary_organic_acids_in_aquaculture_to_disease_management_and_fish_growth
- Roy, S., y Dhaneshwar, S. (2023). Role of prebiotics, probiotics, and synbiotics in management of inflammatory bowel disease: Current perspectives. *World Journal of Gastroenterology*, 29(14), 2078-2100. <https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i14.2078>
- Saavedra, M. (2006). Manejo del cultivo de tilapia. Managua, Nicaragua. *Manejo Del Cultivo De Tilapia*, 1-27. <https://www.crc.uri.edu/download/MANEJO-DEL-CULTIVO-DE-TILAPIA-CIDEA.pdf>
- Samtiya, M., Aluko, R. E., Puniya, A. K., y Dhewa, T. (2021). Enhancing micronutrients bioavailability through fermentation of plant-based foods: A concise review. *Fermentation*, 7(2), 1-13. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020063>
- Saturno, J. O., Maxion, M. T., y Bartolome, R. M. (2019). Antibacterial activity of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Extracts against *Aeromonas hydrophila* in-vitro and in-

- vivo. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 8(1), 65-72.
<https://doi.org/10.31032/ijbpas/2019/8.1.4609>
- Shoko, A. P., Limbu, S. M., Mrosso, H. D. J., y Mgaya, Y. D. (2015). Reproductive biology of female Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in monoculture and polyculture with African sharptooth catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). SpringerPlus, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1027-2>
- Siamujompa, M., Ndashe, K., Zulu, F. C., Chitala, C., Songe, M. M., Changula, K., Moonga, L., Kabwali, E. S., Reichley, S., y Hang'ombe, B. M. (2023). An Investigation of Bacterial Pathogens Associated with Diseased Nile Tilapia in Small-Scale Cage Culture Farms on Lake Kariba, Siavonga, Zambia. *Fishes*, 8(9). <https://doi.org/10.3390/fishes8090452>
- Srirengaraj, V., Razafindralambo, H. L., Rabetafika, H. N., Nguyen, H. T., y Sun, Y. Z. (2023). Synbiotic agents and their active components for sustainable Aquaculture: Concepts, action mechanisms, and applications. *Biology*, 12(12), 1498. <https://doi.org/10.3390/biology12121498>
- Stadtlander, T., Bandy, J., Rosskothén, D., Pietsch, C., Tschudi, F., Sigrist, M., Seitz, A., y Leiber, F. (2022). Dilution rates of cattle slurry affect ammonia uptake and protein production of duckweed grown in recirculating systems. *Journal of Cleaner Production*, 357(August 2021), 131916. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131916>
- Stickney, R. R. (2017). Tilapia feeding habits and environmental tolerances. *Tilapia in Intensive Co-culture*, 25-35. <https://doi.org/10.1002/9781118970652.ch2>
- Stratev, D., Zhelyazkov, G., Noundou, X. S., y Krause, R. W. M. (2018). Beneficial effects of medicinal plants in fish diseases. *Aquaculture International*, 26(1), 289-308. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0219-x>
- Swain, S., Sawant, P. B., Chadha, N. K., Chhandaprajnadarsini, E. M., y Katare, M. (2020). Significance of water pH and hardness on fish biological processes: A review. *International Journal of Chemical Studies*, 8(4), 830-837. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i4e.9710>
- Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J., Naska, A., Pelaez, C., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Cubadda, F., Frenzel, T., Heinonen, M., Prieto Maradona, M.,

- ... Knutsen, H. K. (2022). Safety of *Lemna minor* and *Lemna gibba* whole plant material as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 20(11). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7598>
- VELP. (2019). Crude Fiber Determination in Feed. VELP Scientifica. <https://www.velp.com/public/file/10crude-fiber-determination-in-feed-weende-method-fiwe-advance-206305-216589-216592-216595.pdf>
- Wahman, R., Moser, S., Bieber, S., Cruzeiro, C., Schröder, P., Gilg, A., Lesske, F., y Letzel, T. (2021). Untargeted analysis of *Lemna minor* metabolites: Workflow and prioritization strategy comparing highly confident features between different mass spectrometers. *Metabolites*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/metabo11120832>
- Wang, B., Thompson, K. D., Wangkahart, E., Yamkasem, J., Bondad-Reantaso, M. G., Tattiyapong, P., Jian, J., y Surachetpong, W. (2023). Strategies to enhance tilapia immunity to improve their health in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 15(S1), 41-56. <https://doi.org/10.1111/raq.12731>
- Wee, W., Abdul Hamid, N. K., Mat, K., Khalif, R. I. A. R., Rusli, N. D., Rahman, M. M., Kabir, M. A., y Wei, L. S. (2022). The effects of mixed prebiotics in aquaculture: A review. *Aquaculture and Fisheries*, 9(1), 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.02.005>
- Xia, Y., Wang, M., Gao, F., Lu, M., y Chen, G. (2020). Effects of dietary probiotic supplementation on the growth, gut health and disease resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Nutrition*, 6, 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.07.002>
- Zhang, W., Li, C., y Guo, M. (2021). Use of ecofriendly alternatives for the control of bacterial infection in aquaculture of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Aquaculture*, 545(July), 737185. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737185>
- Zhou, Q., Wu, K., Yao, L., Chen, R., Liu, S., Xing, H., Nie, L., y Wu, Z. (2023). Bio-ecological remediation of freshwater aquaculture environments: A systematic review and bibliometric analysis. *Water Biology and Security*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.watbs.2023.100229>
- Zhu, F. (2020). A review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. *Aquaculture*, 526, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735422>

Zhu, L., Wang, S., Cai, Y., Shi, H., Zhou, Y., Zhang, D., Guo, W., y Wang, S. (2023). Effects of Five Prebiotics on Growth, Antioxidant Capacity, Non-Specific Immunity, Stress Resistance, and Disease Resistance of Juvenile Hybrid Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂). *Animals*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/ani13040754>

ANEXOS

Ilustración 10. Mantenimiento de las unidades experimentales.



Ilustración 12. Pesaje utilizando una regla y un fondo blanco marcado con varias medidas.



Ilustración 14. Pesaje de Lemna minor para determinación de humedad.



Ilustración 16. Esterilización en autoclave de agar nutritivo y agar GSP.



Ilustración 18. Siembra de las muestras de intestino de tilapia en placas con agar nutritivo.



Ilustración 11. Pesaje individual de las tilapias.



Ilustración 13. Criadero de tilapia de donde se obtuvieron los organismos.



Ilustración 15. Extractor de grasas.



Ilustración 17. Extracción de los intestinos de los organismos seleccionados aleatoriamente.



Ilustración 19. Cámara de flujo laminar con las placas preparadas para la siembra.



Ilustración 20. Disolución de la muestra previo a la siembra.



Ilustración 22. Siembra de las diluciones de las muestras en placas con agar GSP.



Ilustración 21. Preparación de tubos de ensayos con solución salina.

