

RESPUESTA MORFOMÉTRICA INTESTINAL EN TILAPIA ROJA (*Oreochromis* spp.) ALIMENTADA CON PELLETS ENRIQUECIDOS CON PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

INTESTINAL MORPHOMETRIC RESPONSE IN RED TILAPIA (*Oreochromis* spp.) FED PELLETS ENRICHED WITH PROBIOTICS AND PREBIOTICS

* Gibson Jonny Cornejo-Dueñas¹, José Ader Gómez-Peñaranda², Plinio Abelardo Vargas-Zambrano¹, Ramona Cecilia Párraga-Alava¹ y Alex Alberto Dueñas-Rivadeneira¹

¹Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Zootécnicas ²Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias
gcornejo@utm.edu.ec, joagomezpe@unade.edu.co, pavargas@utm.edu.ec, rpárraga@utm.edu.ec, aduenas@utm.edu.ec

RESUMEN

El uso de prebióticos y probióticos en la nutrición animal produce efectos beneficiosos estimulando selectivamente el crecimiento o actividad de uno o más tipos de bacterias en los intestinos. El objetivo de la investigación buscó establecer las variaciones morfológicas microscópicas en intestino enriquecido con probióticos y prebióticos en alevines y juveniles de tilapia roja *Oreochromis* spp. Para ello se utilizaron 600 alevines y 600 juveniles, con 4 tratamientos y 3 repeticiones. Se realizó el análisis estadístico de medidas repetidas (PROC MIXED), utilizando el programa estadístico SAS, para las comparaciones múltiples se utilizó el test de Tukey. La variable altura de vellosidades en alevines y juveniles T₂, T₃ y T₄ alcanzaron las mayores longitudes con un coeficiente de variación de 12,6% por lo que las medidas tienden a ser homogéneas, se demostró que la inclusión de estos compuestos, generan cambios significativos (P<0,05) en las vellosidades respecto al T₁; la variable densidad de vellosidades en alevines, T₂, T₃ y T₄ no aumentan el número de vellosidades por centímetro cuadrado (cm²) respecto al control. En juveniles, al encontrarse diferencias, se demostró que T₂ y T₃ aumentaron el número de vellosidades por cm². La variable ancho de vellosidad en alevines, se encontró que T₂, T₃ y T₄ no tienen incidencia en aumento o disminución del ancho de las vellosidades; en juveniles, los resultados difieren dado que T₃ y T₄ tuvieron incidencia en la anchura de las vellosidades al aumentar su grosor. Ello permite concluir que el comportamiento en la morfometría cuando se enriquece el alimento con probióticos y prebiótico varía dependiendo de la fase en que se encuentre el pez.

Palabras clave: Morfometría; vellosidades; intestino; alevines; juveniles

ABSTRACT

The use of prebiotics and probiotics in animal nutrition produces beneficial effects by selectively stimulating the growth or activity of one or more types of bacteria in the intestines. The objective of the research was to establish the microscopic morphometric variations in intestine enriched food with probiotics and prebiotics in alevins and juveniles of red tilapia *Oreochromis* spp. For this, 600 alevins and 600 juveniles were used, with 4 treatments and 3 repetitions. The statistical analysis of repeated measures (PROC MIXED) was performed, using the statistical program SAS, for the multiple comparisons the Tukey test was used. The variable height of villi in alevins and juveniles T₂, T₃ and T₄ reached the highest lengths, this showed that the inclusion of these compounds, generate significant changes (P < 0.05) in the villi with respect to T₁; the villi density variable in alevins, T₂, T₃ and T₄ do not increase the number of villi per square centimeter (cm²) with respect to the control. In juveniles, when differences were found, it was shown that T₂ and T₃ increased the number of villi per cm². The width variable of villi in alevins were found that T₂, T₃ and T₄ have no incidence in increase or decrease of the width of the villi; in juveniles, the results differ since T₃ and T₄ had an influence on the width of the villi when their thickness increased. This allows to conclude that the behavior in the morphometry when the food is enriched with probiotics and prebiotic varies depending on the phase in which the fish is found.

Key words: Morphometry; villi; intestine; alevins; juveniles

INTRODUCCIÓN

Uno de los factores relevantes en la producción animal es la alimentación, ésta puede representar hasta el 80% de los costos de producción [7]. La producción piscícola no es la excepción, aún cuando los costos son los más elevados respecto a otras producciones pecuarias. El alto costo se debe en gran medida, a que las especies piscícolas necesitan para su nutrición, alimentos con elevados niveles proteicos, y la mayoría de las fuentes proteicas con que se fabrican estos alimentos son costosas, por lo que buscar alternativas que permitan maximizar el aprovechamiento de la proteína del alimento en términos nutritivos, sería una buena opción para mejorar la gestión de la alimentación [10].

Una alternativa es el uso de prebióticos, los cuales son ingredientes no digeribles de la dieta, que producen efectos beneficiosos estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o más tipos de bacterias en el colon [14], a su vez tienen la propiedad de elevar el potencial de salud del hospedador, y probióticos, que son aquellos microorganismos vivos que, al ser agregados como suplemento en la dieta, afectan en forma beneficiosa al desarrollo de la flora microbiana en el intestino, los cuales sirven para mejorar crecimiento como también la resistencia a enfermedades [1].

No obstante, en la mayoría de las investigaciones solo se evalúan los parámetros de: consumo de alimento, ganancia de peso e índice de conversión alimenticia, dejándose a un lado la importancia de la respuesta fisiológica del sistema digestivo [8].

Por ende, la utilización de prebióticos y probióticos en la producción de peces, busca lograr una mejor absorción de los nutrientes, disminuir la mortalidad y mejorar la resistencia a las enfermedades, entre otros. El uso de prebióticos y probióticos en el alimento ha demostrado tener un impacto significativo en la salud del pez, además del resultado económico en la producción reduciendo el riesgo de enfermedades y la necesidad de medicamentos y/o, tales como hormonas y antibióticos [2].

La biotecnología moderna en acuicultura ha desarrollado productos que regulan la flora bacteriana intestinal a través de diversos microorganismos llamados probióticos (denominados así por la acción opuesta a la de los antibióticos), creando barreras biológicas para evitar la infección de peces y camarones, que ocasiona altas mortalidades en piscinas y estanques [2].

En el mercado son muy conocidos los productos: Orego-Stim® (Fito biótico), Bio-Mos® (manano oligosacárido), y Biosa® (producto a base de bacterias y levaduras), desarrollados por casas comerciales extranjeras, empleados en las producciones pecuarias a nivel industrial, y que cuentan con investigaciones que soportan su eficacia en la gran mayoría de las especies animales, pero casi en ninguna en peces.

En Colombia son pocos los estudios científicos realizados que

midan la influencia de los probióticos y prebióticos en la absorción de nutrientes procedentes de la alimentación en especies piscícolas, y solo se han evaluado los parámetros de crecimiento y aprovechamiento nutritivo dejando a un lado la importancia de la respuesta fisiológica del sistema digestivo [5].

Por todo ello, es necesario evaluar las variaciones morfométricas a nivel de intestino (altura de las vellosidades intestinales, ancho de las vellosidades, número de vellosidades, densidad por campo) y así complementar el estudio científico sobre la respuesta fisiológica al enriquecer el alimento concentrado con prebióticos y probióticos en la alimentación de Tilapia roja *Oreochromis* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

La fase experimental se realizó en la Granja Piscícola Campo Alegre en los meses de enero y febrero con un periodo de 60 días (d) y, ubicada en la vereda Agua Clara, municipio de Palmira, Valle del Cauca con coordenadas geográficas de latitud 3° 30 minutos 31,61 segundos N longitud 76° 14 minutos 17,39 segundo O, a unos 1100 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) con una temperatura promedio de 27°C. Se estableció el diseño experimental de Medidas Repetidas, se evaluaron cuatro tratamientos en cada una de las dos etapas productivas de la tilapia, alevines y juveniles, cada tratamiento contó con tres réplicas o repeticiones. Se utilizaron 1.200 peces (600 alevines de tilapia y 600 juveniles de tilapia) con un peso promedio de 2 gramos (g), toda la fase experimental se desarrolló en dos reservorios en tierra cada uno con un volumen de 160 metros cúbicos (m³), utilizando un sistema de circuito abierto del agua. Cada reservorio albergó un total de 3 japas o jaulas de 3 metros (m) de ancho por 3 metros (m) de largo, cada una subdividida en cuatro partes, Se realizó la profilaxis del reservorio antes de su llenado, fumigando con ½ litro (L) de Gramoson para eliminar malezas, posteriormente se efectuó una fumigación, formol para eliminar patógenos y finalmente se distribuyó cal dolomita por todo el reservorio para mejorar las condiciones de pH. Los alevines se distribuyeron en 12 jaulas al igual que los juveniles en un solo estanque, y en cada parte se establecieron 50 peces.

Todos los días (d) se procedió a retirar las bajas de peces presentes en los tanques, y se midieron los valores de temperatura y oxígeno disuelto mediante sonda multiparamétrica (Metter Toledo modelo SevenGo pro™ EUA). Los análisis de calidad del agua (amoníaco, nitritos, nitratos) fueron realizados con KIT para análisis (MOL LABS Quimiométricas) tres veces por semana (sem)

Adición del prebiótico y probióticos al alimento

Se utilizaron dos alimentos comerciales con 38 y ídem 32% de proteína de la marca ITALCOL S.A. con el fin de alimentar tilapias en etapas de alevines y juveniles, respectivamente, la adición del prebiótico y probióticos al alimento se realizó de la siguiente manera:

Para una cantidad de alimento de 40 kilos (kg) en pellets, se realizó un preparado (jarabe) que contenía 330 gramos (g) de sacarosa comercial, 200 g de azúcar morena, 500 mililitros (mL) de aceite y 200 mL de agua para los tratamientos. A cada mezcla se le adicionó los productos a ensayar, a razón de: Biosa = 200 mL*kg⁻¹ de alimento y, para Bio-mos y Orego-Stim = 8 mL*kg⁻¹ de alimento. Una vez, incorporado cada producto al preparado, se adicionó al alimento mezclando durante 15 minutos (min), paso seguido, se puso a secar y se almacenó.

El alimento se suministró manualmente a saciedad en 6 raciones diarias, iniciando a las 9:00 y terminando a las 16:00 horas (h) para todos los tratamientos. Se registró diariamente la cantidad de alimento suministrado.

El análisis estadístico de los datos obtenidos, se realizó mediante medidas repetidas (PROC MIXED), empleando como factores el tratamiento y el tiempo, Cada unidad experimental vendría a ser el promedio (de datos recogidos) de cada repetición. Se utilizó el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System Institute, versión 9.0, 2006); para las comparaciones múltiples se utilizó el test de Tukey.

Análisis morfométrico de vellosidades intestinales en alevines

Los estudios de las distintas estructuras histológicas pertenecieron a las regiones medias del intestino. Las variables analizadas en la etapa de alevines y juveniles para medir el desarrollo morfométrico intestinal fueron: Altura, ancho y densidad de vellosidades intestinales.

Las muestras se conservaron en formol al 10% y se enviaron al laboratorio de histotécnica, donde se les practicó la técnica de inclusión en parafina, para hacer posteriormente los cortes histológicos de 4 micra (μ) de grosor y la tinción de hematoxilina & eosina. Seguidamente se realizó la lectura de las 120 placas, usando para tal fin un microscopio marca Olympus modelo CX31 fabricante Sony hecho en Alemania con objetivo micrométrico con aumento de 10x.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la TABLA I se observa los resultados estadísticos de las medidas morfométricas para las variables altura, ancho y densidad en alevines de tilapia roja *Oreochromis* spp. Por tratamientos, repeticiones y los coeficientes de variación.

Al observar el valor de la variable altura de vellosidad, éste presentó un coeficiente de variación del 12,26%, lo que indicó que las medidas obtenidas tienen tendencia a ser homogéneas, con una media representativa de 137,21 milimicra (mμ). Respecto a la variable ancho de vellosidad, al comparar las repeticiones se observó un coeficiente de variación (CV) del 13,69%, lo que demuestra que los datos tienen tendencia a una distribución normal y homogénea, con una media de 78,49 mμ. Para la variable densidad de vellosidad, que significa el número de vellosidades por unidad de área mμ², presentó un coeficiente de variación (CV) del 9,96%, esto mostró que los datos tienen una tendencia uniforme y con bajo nivel de dispersión, presentando una media del 17,34 mμ. Las variables altura, ancho y densidad de vellosidades entre repeticiones no presentan diferencias significativas.

TABLA I
ANDEVA PARA DATOS DE MEDIDAS MORFOMÉTRICAS EN ALEVINES (*Oreochromis* spp.)

Variable	Fuente	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F. Calc.	F. Tabla.	Media (μm)	CV (%)
Altura	Repetición	2	910	455	1,71	0,2578		
	Tratamiento	3	10516,9	3505,6	3,2	0,0047	137,2	12,2
Ancho	Repetición	2	217,2	108,1	1,28	0,3451		
	Tratamiento	3	760,2	153,4	2,99	0,1174	78,4	13,6
Densidad	Repetición	2	35,8	17,9	2,02	0,2137		
	Tratamiento	3	22	7,3	0,83	0,5252	17,13	9,9

GI= Grados de libertad; F.Calc= Frecuencia calculada; F.tabla= Frecuencia de tablas; CV= Coeficiente de variación.

TABLA II
RESULTADOS MORFOMÉTRICOS DE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES EN ALEVINES OBTENIDOS CON LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

VARIABLES	TRATAMINETOS			
	T1	T2	T3	T4
Altura (mμ)	101,2 ^b	153,2 ^a	146,6 ^a	147,7 ^a
Ancho (mμ)	73,4 ^a	80,4 ^a	86,8 ^a	73,1 ^a
Densidad (mμ)	15,7 ^a	18,1 ^a	17,5 ^a	19

T1= Tratamiento 1; T2=Tratamiento 2; T3=Tratamiento 3; T4=Tratamiento 4.

TABLA III
ANDEVA PARA DATOS DE MEDIDAS MORFOMÉTRICAS EN JUVENILES

VARIABLES	FUENTE	GL	Suma Cuadrados	Cuadrados Medios	F _{CALC}	F _{TABLA}	Media (mμ)	CV (%)
Altura	Repetición	2	13,99	6,9	0,00	0,9952	177,1	14,2
	Tratamiento	3	16163,42	5387,80	3,74	0,0795		
Ancho	Repetición	2	1306,20	653,10	2,34	0,1773	107,7	18,29
	Tratamiento	3	3430,05	1143,35	4,10	0,0670		
Densidad	Repetición	2	10,81	5,40	1,61	0,2749	15,13	13,15
	Tratamiento	3	164,86	54,95	16,41	0,0027		

GI= Grados de libertad; F_{calc}= Frecuencia calculada; F_{tabla}= Frecuencia de tabla; CV= coeficiente de variación.

TABLA IV
RESULTADOS MORFOMÉTRICOS DE LAS
VELLOSIDADES INTESTINALES EN JUVENILES
OBTENIDOS CON LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

VARIABLES	TRATAMIENTOS			
	T1	T2	T3	T4
Altura (mμ)	150,5 ^B	165,9 ^{AB}	207,7 ^A	184,0 ^A
Ancho (mμ)	102,7 ^{AB}	94,4 ^B	118,6 ^A	115,3 ^A
Densidad (1mμ ²)	12,5 ^B	18,0 ^A	16,2 ^A	13,6 ^B

T1= Tratamiento 1; T2=Tratamiento 2; T3= Tratamiento;
T4=Tratamiento 4.

En la TABLA II se ven reflejados los resultados obtenidos de las diferentes variables bajo los efectos de los 4 tratamientos (T₁: Control, T₂: Orego-Stim, T₃: Biosa, T₄: Bio-mos); de esta información se deduce que para la característica altura de vellosidad se observaron diferencias significativas (P>0,05) entre T₁ y los demás tratamientos (T₂, T₃ y T₄); el tratamiento control (T₁) presentó el menor tamaño en altura de las vellosidades (101,21 mμ), en comparación con los de más tratamientos en los que se incorporaba probióticos y prebiótico en la alimentación.

Para la variable ancho de vellosidad no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos, pero se pudo observar que se presentó una diferencia biológica entre los tratamientos T₂ y T₃, los cuales alcanzaron valores mayores en comparación con T₁ y T₄.

Los tratamientos evaluados no afectaron la variable densidad de vellosidad, pues no se presentaron diferencias significativas (TABLA II), aunque es importante destacar que los tratamientos que incorporaron pre y probióticos en el alimento (T₂, T₃ y T₄), presentaron un mayor número de vellosidades intestinales respecto al control (T₁).

Análisis morfométrico de vellosidades intestinales en juveniles

Al estudiar las distintas estructuras histológicas, procedentes de la porción media del intestino perteneciente a tilapias en etapa

de juveniles, las variables analizadas para medir el desarrollo morfométrico intestinal fueron: Altura, ancho y densidad de vellosidades intestinales.

En la TABLA III, se puede observar que, dentro de las repeticiones para la variable altura de vellosidad, no se encontró diferencias significativas entre las muestras (P>0,05) y presentó una media de 177,16 mμ y un coeficiente de variación (CV) del 14,2% lo que indicó que los datos mantienen una distribución uniforme. Para efecto de los diferentes tratamientos en la variable altura de vellosidad se tiene que, F_{CALC} fue mayor que F_{TABLA}, lo que demuestra que existieron diferencias significativas (P>0,05) entre tratamientos. Si se considera la variable ancho de vellosidad dentro de repeticiones, no se observaron diferencias significativas y presentaron un coeficiente de CV del 18,29%, esto mostró que las medidas tienen tendencia homogénea con una media de 107,79 mμ; contrario sucedió con el efecto de los tratamientos sobre la variable ancho, la cual presentó diferencias significativas (P>0,05) ya que, F_{CALC} fue mayor que F_{TABLA}. La densidad de vellosidades por mμ² dentro de repeticiones, indicó un CV del 13,15% y una media de 15,13 vellosidades/mμ² lo que demuestra que los datos tienen tendencia homogénea y presentaron una distribución normal; La variable densidad bajo el efecto de tratamientos presentó diferencias significativas (P> 0,05) ya F_{CALC} fue mayor que F_{TABLA}, tanto los resultados variaron de acuerdo al tratamiento utilizado.

En la TABLA IV, se expresan los valores obtenidos para tilapias en etapa juvenil bajo los efectos de los tratamientos. Para la variable altura, se pudo observar que los tratamientos presentaron diferencias significativas (P> 0,05), donde el tratamiento T₁ (150 mμ) obtuvo el menor valor respecto a T₃ y T₄ que no presentaron diferencias entre sí y obtuvieron los valores más altos.

Para la variable ancho se observaron diferencias significativas entre tratamientos, donde el tratamiento T₂ (94,4 mμ) obtuvo el menor valor en comparación con los tratamientos T₃ y T₄, los cuales alcanzaron los valores más altos.

Para la variable densidad de vellosidades por unidad de área, los tratamientos T₁ y T₄ arrojaron los menores valores, siendo

T₂ y T₃ los tratamientos con mayor número de vellosidades intestinales.

Las vellosidades intestinales son consideradas estructuras funcionales para la digestión y la absorción en el intestino de los peces, esto permite deducir que, si aumenta el número, y mejoran su altura, el intestino tendrá la capacidad de utilizar de mejor forma los nutrientes incorporados en los alimentos [13].

En cuanto a la variable altura de vellosidades en alevines, los tratamientos que incorporaron los probióticos (biosa y bio-mos) y prebiótico (Orego-Stim) en el alimento, alcanzaron las mayores longitudes, esto demostró que la inclusión de estos compuestos generan cambios significativos ($P < 0,05$) en las vellosidades intestinales de alevines de *Oreochromis* spp. Este mismo comportamiento se presentó para juveniles, donde los tratamientos enriquecidos con probióticos (biosa y bio-mos) y prebiótico (Orego-Stim), alcanzaron las mayores longitudes respecto al tratamiento control. [4], informó que se presentaron cambios estructurales en el intestino de *Solea senegalensis* cuando se adicionó dos probióticos (*Shewanella putrefaciens* y *Shewanella baltica*) en la alimentación. [14], observaron un incremento en la longitud de las micro vellosidades del yeyuno en pollos (*Gallus novergicus*) alimentados con una ración suplementada, lo cual mejoró el aprovechamiento nutritivo del alimento.

En cuanto a la variable densidad de vellosidades en intestino, al no encontrarse diferencias significativas se asume que, los probióticos y prebiótico no aumentan el número de vellosidades por 1 m μ ² en alevines de *Oreochromis* spp. Por el contrario, resultados diferentes se obtuvieron en juveniles, al encontrarse diferencias, y se pudo demostrar que los probióticos como biosa y el prebiótico Orego-Stim aumentaron el número de vellosidades por 1 m μ ², por lo cual se puede afirmar que la capacidad de absorción de nutrientes en cada segmento de intestino es proporcional al número de vellosidades que se encuentren, así a mayor número de vellosidades mayor absorción de nutrientes.

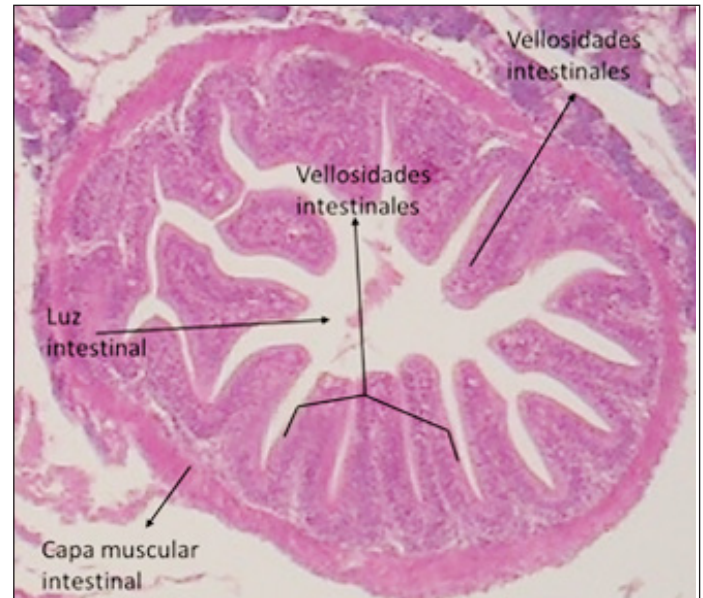
En cuanto a la variable ancho de la vellosidad en intestino de alevines, se pudo observar que los tratamientos que incorporaban probióticos (biosa y bio-mos) y prebiótico (Orego-Stim) en el alimento, no incidieron en el aumento o disminución del ancho de las vellosidades. En ese sentido, los resultados obtenidos en juveniles de *Oreochromis* spp., difieren a los encontrados en juveniles, donde aquellos tratamientos que incorporaban probióticos (biosa y bio-mos) en el alimento, tuvieron incidencia en la anchura de las vellosidades al aumentar su grosor. Al respecto Goldin [6] manifiesta que, al presentar menor grosor las vellosidades intestinales, el número de éstas aumenta pues se pueden alojar mayor número en un mismo espacio, esto significa en términos nutricionales una mayor superficie de absorción.

Los resultados respecto a la variable altura de vellosidad intestinal alcanzados con tilapias en etapa de alevines y juveniles, concuerdan con lo reportado por Rodríguez y Beltrán

[12], quienes encontraron que el tratamiento testigo presentó menor altura de las vellosidades duodenales con respecto a los tratamientos a los cuales les incluyeron probióticos.

Otros estudios [3,9, 10,11] reportaron resultados que coinciden con el presente estudio, pues encontraron que las vellosidades varían su morfometría aumentando su altura y densidad cuando se adicionan probióticos en la dieta en diferentes especies.

FIGURA 1. PLACA DE INTESTINO DE LA TILAPIA.



Fuente: G.J. Cornejo D. 2016

CONCLUSIONES

La inclusión de probióticos y prebiótico en el alimento generó cambios significativos ($P < 0,05$) en las vellosidades intestinales de tilapias en etapa productiva de alevines y juveniles de *Oreochromis* spp. en cuanto a la altura, pues incrementaron su longitud, y solo se evidenció cambios estadísticamente significativos en el ancho y la densidad de las vellosidades intestinales cuando se alimentó con prebiótico y probióticos en la etapa juvenil. Para la etapa de alevinaje, aunque no se presentaron diferencias significativas, hay que destacar que biológicamente si se obtuvieron diferencias en los valores, donde los tratamientos que suministraron probióticos y prebiótico en el alimento alcanzaron los mayores valores.

Se pudo demostrar que el comportamiento en la morfometría de las vellosidades intestinales de tilapias en fase de alevinaje y juvenil, se modificaron cuando se enriqueció el alimento con probióticos y prebiótico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] COTA, E; HURTADO, L; PÉREZ, E; ALCÁNTARA, L. Resistencia a antibióticos de cepas bacterianas aisladas de animales destinados al consumo humano: **Rev. Iber.Cien.** 1 (1): 75-85. 2008.
- [2] COTA, G; ABRAHAM, L. Efecto de prebióticos y microorganismos con potencial pro- biótico en el crecimiento y supervivencia de la tilapia *Oreochromis niloticus*, cultivada en condiciones experimentales. Instituto Politécnico Nacional. Tesis de Grado. Pp 31-71. 2011
- [3] DÍAZ, C; MEDINA, A; VILLAMIZAR, A; PALENCIA, D. Efecto de un suplemento líquido a base de *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus casei* para la alimentación de mojarra roja (*Oreochromis spp.*) en etapa de alevinaje y precria Liquid supplement effect based *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus casei*. **Alim. Cien. Tecnol.** **Alim.** 12(1): 86–92. 2014
- [4] GARCÍA, I. Efecto de la adición de dos probióticos (*Shewanella putrefaciens* y *Shewanella baltica*) en el engorde del lenguado senegalés (*Solea senegalensis* Kaup, 1858). Tesis de Grado. Pp 18-208. 2013.
- [5] GATESOUBE, F. The use of Probiotics in Aquaculture. **Aquacult.** 180(1): 147–165. 1999.
- [6] GOLDIN, B. Health benefits of probiotics. **British J.Nutr.** 80: 203-208.1998. MARTINEZ, P; IBAÑEZ, A; MONROY, O; RAMIREZ, H. Use of Probiotics in Aquaculture. **ISRN Microbiol.** 2012:916845.2012. (Eds.)
- [7] MACARI, M; FURLAN, R; GONZÁLES, E.. Ingestao de alimentos: Mecanismos regulatorios. In Fisiología aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: **Ed. Funep.** 2(1): 187–192. 2002
- [8] MENOCA, J; ÁVILA, E; LÓPEZ, C. Comportamiento productivo y cambios morfológicos en vellosidades intestinales del pollo de engorda a 21 días de edad con el uso de paredes celulares del *Saccharomyces cerevisiae*. **Vet. Mex.** 39(2): 223–228. 2008
- [9] RAMÍREZ, C; BOLÍVAR, G; CIFFONI, G; PANCHENIAK, E; SOCCOL, E. Microorganismos lácticos probióticos para ser aplicados en la alimentación de larvas de camarón y peces como sustituto de antibiótico. **Aliment.Lat.Ame.** 204: 70-78. 2006.
- [10] RODRIGUEZ, J; ALSINA, S. Cambios morfológicos en vellosidades intestinales, en pollos de engorde alimentados a partir de los 21 días con una dieta que incluyó el 10% de microorganismos eficientes. **Rev. Cien. Tec. Amb.** 1 (1): 40-46. 2010.
- [11] RODRIGUEZ, J; BELTRÁN, L. Variaciones morfométricas a nivel de las vellosidades en intestino anterior y posterior en Cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) con la inclusión de morera (*Morus alba*) al 15% en la etapa de ceba. . **Rev. Cien. Tec. Amb.** 2 (3): 50-59. 2012.
- [12] TRAUTMAN, D; FIEBIGER, J. Histología y Anatomía microscópica de los animales domésticos. Valencia. Pp 54-57. 1970
- [13] VILLAMIL, L; MARTINEZ. *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus casei*, agentes probióticos sobre la resistencia a infecciones e incremento de peso en tilapia neolótica (*Oreochromis niloticus*). **Alim.Cien.Tecn.** **Alim.** 12 (1): 86-92. 2014
- [14] XU X; BAZNER, J; QI, M; JOHNSON, E; FREIDHOFF, R. The role of telencephalic NMDA receptors in avoidance learning in goldfish (*Carassius auratus*). **Behav. Neurosci.** 117(3): 548-554. 2003