



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

Unidad de Integración
Curricular previo a la
obtención del título de
Ingeniero Zootecnista.

Título de la Unidad de Integración Curricular:

“MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN JUVENILES DE LANGOSTA DE
AGUA DULCE (*Cherax quadricarinatus*) ALIMENTADOS CON MEZCLAS
PROBIÓTICAS”

Autor:

Mera Gómez Henry Alejandro

Director de la Unidad de Integración Curricular:

Ing. Yuniel Méndez Martínez PhD.

Quevedo – Los Ríos - Ecuador.

2019



FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
CAMPUS UNIVERSITARIO LA MARÍA
Km. 7 ½ Vía Quevedo-El Empalme, Entrada a Mocache



Teléfonos: FCP (Fax) 783 487 UTEQ (593-05) 750 320 / 751 430 / 753 302
Fax UTEQ: (593 -05) 753 300 / 753 303 / 752 177
E. mail. info@uteq.edu.ec /fcp_91@yahoo. es Quevedo – Los Ríos – Ecuador

CASILLAS
Guayaquil:
10672
Quevedo :73

La Primera Universidad Agropecuaria del País. Acreditada

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHO

Yo, **MERA GÓMEZ HENRY ALEJANDRO**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi auditoria; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondiente a este trabajo, según lo establecido por la ley de Propiedad Intelectual por, su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Mera Gómez Henry Alejandro

C.C. # 09291678-9

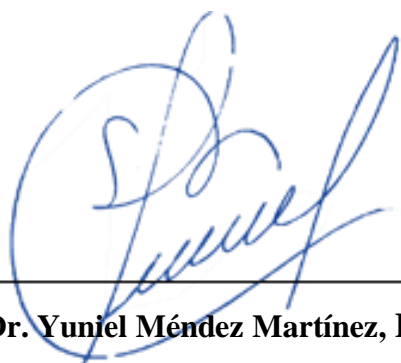
AUTOR

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

Dando cumplimiento al reglamento de la Unidad de Titulación Especial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y a las normativas y directrices establecidas por el SENESCYT, el suscrito **Dr. Yuniel Méndez Martínez, PhD.** en calidad de director del Proyecto de la Unidad de Integración Curricular Titulado “**Modulación de la respuesta inmune en juveniles de langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*) alimentados con mezclas probióticas**”, de autoría del estudiante de la carrera de Ingeniería Zootecnia, **Mera Gómez Henry Alejandro**, certifica que el porcentaje de similitud reportado por el Sistema URKUND es de 6%, el mismo que es permitido por el mencionado Software y los requerimientos académicos establecidos.

URKUND	
Documento	Tesis Mera Gomez 13.11.2020.docx (D85464510)
Presentado	2020-11-15 17:02 (-05:00)
Presentado por	EMMA TORRES (etorres@uteq.edu.ec)
Recibido	etorres.uteq@analysis.urkund.com
Mensaje	TESIS HENRY MERA GÓMEZ Mostrar el mensaje completo 6% de estas 17 páginas, se componen de texto presente en 8 fuentes.

Atentamente,



Dr. Yuniel Méndez Martínez, PhD.

DIRECTOR DEL PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACION CURRICULAR.



FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
CAMPUS UNIVERSITARIO LA MARÍA
Km. 7 ½ Vía Quevedo-El Empalme, Entrada a Mocache



Teléfonos: FCP (Fax) 783 487 UTEQ (593-05) 750 320 / 751 430 / 753 302
Fax UTEQ: (593 -05) 753 300 / 753 303 / 752 177
E. mail. info@uteq.edu.ec / fcp_91@yahoo.es Quevedo – Los Ríos – Ecuador

CASILLAS
Guayaquil:
10672
Quevedo :73

La Primera Universidad Agropecuaria del País. Acreditada

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Dr. Yuniel Méndez Martínez, PhD.** Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), certifica que el estudiante **Mera Gómez Henry Alejandro**, realizó el proyecto de investigación de grado titulado **“MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN JUVENILES DE LANGOSTA DE AGUA DULCE (*Cherax quadricarinatus*) ALIMENTADOS CON MEZCLAS PROBIÓTICAS”**, previo a la obtención del título de Ingeniero Zootecnista, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Dr. Yuniel Méndez Martínez, PhD.

DIRECTOR DEL PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACION CURRICULAR.



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Título:

“MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN JUVENILES DE LANGOSTA DE AGUA DULCE (*Cherax quadricarinatus*) ALIMENTADOS CON MEZCLAS PROBIÓTICAS”

Presentado a la comisión académica como requisito previo a la obtención del título de
Ingeniero Zootecnista

Aprobado por:

Dr. Martin González Vélez

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Alexandra Barrera Álvarez

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Emma Torres Navarrete

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, por protegerme durante todo mi camino, dándome fuerzas para superar obstáculos y dificultades en esta etapa de mi vida.

A mis padres y hermanos por ayudarme con los recursos necesarios y sobre todo por haberme apoyado económicamente durante el desarrollo de mi vida universitaria.

Agradezco también a mis abuelas Felicita Caicedo y Jacinta Mendoza, por el apoyo y la sabiduría que me han brindado como personas experimentadas de la vida, para no desmayar en mi trayecto estudiantil

A mi demás familia, Javico, Chino, Gladys, Cecibel, Vequito, Malu, Cacao, mi agradecimiento hacia uds también por ese empuje a seguir adelante

Al DR. Yuniel Méndez Martínez, por haber sido un excelente director, profesional, por la paciencia y dedicación que puso en mi trabajo.

Mi gratitud a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Pecuarias por darme la oportunidad de ser un Ingeniero Zootecnista de la República.

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo se lo dedico principalmente a Dios, por ser el inspirador y darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados como lo es ser Ingeniero Zootecnista

A mi Madre Jaqueline Gómez y a mi Padre Líder Mera, por su apoyo incondicional, por sus consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, que me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis hábitos, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos, lo cual me ha ayudado a salir adelante.

A mis abuelas y mis tíos quienes fueron pilar fundamental en todo este trayecto y siempre me acompañan en mis pensamientos.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de esta investigación.

RESUMEN

La investigación se realizó en el Campus “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en el laboratorio de acuicultura, para lo cual se emplearon 6 tratamientos con tres repeticiones en un DCA. Cada uno de estos tratamientos se estructuraron de una dieta experimental con diferente dosis de mezclas de probióticos (0 - control, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 y 0.50 mL). El objetivo principal de esta investigación fue la evaluación de la repuesta inmune en juveniles de langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*) alimentados con mezclas probióticas por tal razón los resultados se expresaron de la siguiente manera, en cuanto a la variable de hipoxia el que respondió mejor fue el T4 con 76.19%, el de respuesta más baja fue el T0 con 9.56%. Para la variable oxihemocianina se determinó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos siendo el p-valor de 0.0644 superior a lo esperado del F de tabla. Para total de hemocitos se demostró como mejor tratamiento el T4 con 11.74 y el más bajo fue el T0 con 4.39. En cuanto a células hemocitos hialinas se comportó mejor el T3 con 28.30% y el de menor cantidad fue el T1 con 15.50%. para las células hemocitos semi granulocitos expresadas el T0 con 70.79% se comportó de mejor, y los resultados más bajos resulto el T4 con 41.30%. En las células hemocitos granulocitos no hubo diferencias significativas. En la tasa de Fagocitosis se demostró que el mejor tratamiento fue el T4 con un resultado de 38.28% demostrando ser significativo entre los demás tratamientos. En la variable de enzima super óxido dismutasa respondió de mejor manera el T2 con 41.18 y de menor manera el T0 con 7.71. Se concluye que los resultados mostrados indicaron finalmente que la dosis del tratamiento 0.40ml de mezclas probióticas mejora la repuesta inmunológica de los juveniles (*Cherax quadricarinatus*) para una mejor producción.

Palabras claves: Actividad antioxidante, aditivo alimenticio, fagocitosis, hemocitos, hipoxia.

ABSTRACT

The research was carried out at the “La María” Campus, belonging to the Quevedo State Technical University, in the aquaculture laboratory, for which 6 treatments with three repetitions were used in a DCA. Each of these treatments were structured around an experimental diet with different doses of probiotic mixtures (0 - control, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 y 0.50 mL). The main objective of this research was the evaluation of the immune replacement response in juvenile freshwater lobster (*Cherax quadricarinatus*) fed with probiotic mixtures, for this reason the results were expressed as follows, regarding the hypoxia variable which The best response was T4 with 76.19%, the lowest response was T0 with 9.56%. For the oxyhemocyanin variable, it was determined that there were no significant differences between the treatments, the p-value of 0.0644 being higher than expected from the F table. For total hemocytes, T4 with 11.74 was demonstrated as the best treatment and the lowest was T0 with 4.39. Regarding hyaline hemocyte cells, T3 performed better with 28.30% and the lowest amount was T1 with 15.50%. For expressed semi-granulocyte hemocyte cells, T0 with 70.79% performed better, and the lowest results resulted in T4 with 41.30%. In granulocyte hemocyte cells there were no significant differences. In the rate of phagocytosis it was demonstrated that the best treatment was T4 with a result of 38.28 proving to be significant among the other treatments. In the enzyme variable super oxide dismutase, T2 responded in a better way with 41.18 and T0 in a lesser way with 7.71. It is concluded that the results shown finally indicated that the 0.40ml treatment dose of probiotic mixtures improves the immune response of juveniles (*Cherax quadricarinatus*) for better production.

Keywords: Antioxidant activity, food additive, phagocytosis, hemocytes, hypoxia.

TABLA DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHO	i
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO.....	ii
CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	iii
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
CÓDIGO DUBLIN.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	3
CONTEXTUALIZACION DE LA INVESTIGACION	3
1.1. Problema de investigación.....	4
1.1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.1.2. Formulación del problema.	5
1.1.3. Sistematización del problema.....	5
1.2. OBJETIVOS.	6
1.2.1. Objetivo General.....	6
1.2.2. Objetivos Específicos.	6
1.3. Justificación.....	7
CAPÍTULO II	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	8
2.1. Marco conceptual.....	9
2.1.1. Acuicultura.....	9
2.1.2. <i>Cherax quadricarinatus</i>	9
2.1.3. Sistema intensivo.....	9
2.1.4. Metabolismo.	9
2.1.5. Hemocitos.	9
2.1.6. Probiótico.....	9
2.2. Marco referencial.....	10
2.2.1. Características generales de la langosta de agua dulce (<i>Cherax quadricarinatus</i>).....	10
2.2.2. Clasificación taxonómica.....	10
2.3. La acuicultura en Ecuador.....	11
2.3.1. Ventajas bilógicas de la <i>C. quadricarinatus</i> para la acuicultura.....	12

2.4.	Fisiología y morfología.....	12
2.4.1.	Metabolismo.	13
2.4.2.	Sistema inmune.	14
2.4.3.	Actividad enzimática.....	14
2.5.	Probióticos.....	15
2.5.1.	Mecanismo de acción de los probióticos.	16
2.5.2.	Mejora de la calidad de agua.	16
CAPÍTULO III.....		18
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....		18
3.1.	Localización.....	19
3.1.2.	Condiciones meteorológicas.	19
3.2.	Tipo de investigación.	19
3.3.	Métodos de investigación.....	19
3.3.1.	Método de observación.	19
3.3.2.	Método descriptivo.....	20
3.3.3.	Método inductivo.	20
3.4.	Fuentes de recopilación de información.....	20
3.5.	Diseño de la investigación.....	20
3.5.1.	Esquema del análisis de Varianza.....	21
3.5.2.	Modelo Matemático.	21
3.6.	Instrumentos de Investigación.	22
3.6.1.	Condiciones de cultivo de los juveniles de langosta.....	22
3.6.2.	Extracción de Hemolinfa.	23
3.6.3.	Cuantificación de Hemocitos.....	23
3.6.4.	Actividad fagocítica.	25
3.6.5.	Concentración Oxihemocianina.....	26
3.6.6.	Estrés por Hipoxia.	26
3.7.	Tratamientos de Datos.....	27
3.8.	Recursos Humanos y Materiales.....	28
3.8.1.	Recursos humanos.	28
3.8.2.	Materiales e insumos.....	28
CAPITULO IV.....		30
RESULTADOS Y DISCUSION.....		30
4.1.	Respuestas inmunológicas en juveniles de langosta.....	31
4.1.1.	Oxihemocianina.	31
4.1.2.	Hemocitos.	31

4.1.3. Fagocitosis.	34
4.1.4. Hipoxia.	34
4.1.5. Superóxido dismutasa.	36
5.1. Conclusiones.	38
5.1.1. Recomendaciones.	39
BIBLIOGRAFÍA.	41
CAPITULO VII.	49
ANEXOS.	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del <i>C. quadricarinatus</i>	11
Tabla 2. Requerimientos de calidad para el cultivo de Redclaw.	17
Tabla 3. Condiciones meteorológicas en la finca experimental “La María” UTEQ	19
Tabla 4. Esquema del análisis de varianza.	21
Tabla 5. Esquema del experimento.	28
Tabla 6. Parámetros de modulación de la respuesta inmune en juveniles de langosta de agua dulce (<i>Cherax quadricarinatus</i>) alimentados con mezclas probióticas.	33

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1 Hipoxia en juveniles de langosta (<i>C. quadricarinatus</i>) alimentados con mezclas probióticas.....	35
Grafico 2 Enzima superóxido dismutasa en juveniles de langosta (<i>C. quadricarinatus</i>) alimentados con mezclas probióticas	36

CÓDIGO DUBLIN.

Título:	Modulación de la respuesta inmune en juveniles de langosta de agua dulce (<i>Cherax quadricarinatus</i>) alimentados con mezclas probióticas				
Autor:	Meara Gómez Henry Alejandro				
Palabras clave:	actividad antioxidante	aditivo alimenticio	fagocitosis	hemocitos	hipoxia
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2020.				
Resumen:	<p>Resumen. - La investigación se realizó en el Campus “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en el laboratorio de acuicultura, para lo cual se emplearon 6 tratamientos con tres repeticiones en un DCA. Cada uno de estos tratamientos se estructuraron de una dieta experimental con diferente dosis de mezclas de probióticos (0 -control, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 y 0.50 mL). El objetivo principal de esta investigación fue la evaluación de la repuesta inmune en juveniles de langosta de agua dulce (<i>Cherax quadricarinatus</i>) alimentados con mezclas probióticas por tal razón los resultados se expresaron de la siguiente manera, en cuanto a la variable de hipoxia el que respondió mejor fue el T4 con 76.19%, el de respuesta más baja fue el T0 con 9.56%. Para la variable oxihemocianina se determinó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos siendo el p-valor de 0.0644 superior a lo esperado del F de tabla. Para total de hemocitos se demostró como mejor tratamiento el T4 con 11.74 y el más bajo fue el T0 con 4.39. En cuanto a células hemocitos hialinas se comportó mejor el T3 con 28.30% y el de menor cantidad fue el T1 con 15.50%. para las células hemocitos semi granulocitos expresadas el T0 con 70.79% se comportó de mejor, y los resultados más bajos resultado el T4 con 41.30%. En las células hemocitos granulocitos no hubo diferencias significativas. En la tasa de Fagocitosis se demostró que el mejor tratamiento fue el T4 con un resultado de 38.28 demostrando ser significativo entre los demás tratamientos. En la variable de enzima super óxido dismutasa respondió de mejor manera el T2 con 41.18 y de menor manera el T0 con 7.71. Se concluye que los resultados mostrados indicaron finalmente que la dosis del tratamiento 0.40ml de mezclas</p>				

	<p>probióticas mejora la respuesta inmunológica de los juveniles (<i>Cherax quadricarinatus</i>) para una mejor producción.</p> <p>Abstract. - The research was carried out at the “La María” Campus, belonging to the Quevedo State Technical University, in the aquaculture laboratory, for which 6 treatments with three repetitions were used in a DCA. Each of these treatments were structured around an experimental diet with different doses of probiotic mixtures (0 -control, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 y 0.50 mL). The main objective of this research was the evaluation of the immune replacement response in juvenile freshwater lobster (<i>Cherax quadricarinatus</i>) fed with probiotic mixtures, for this reason the results were expressed as follows, regarding the hypoxia variable which The best response was T4 with 76.19%, the lowest response was T0 with 9.56%. For the oxyhemocyanin variable, it was determined that there were no significant differences between the treatments, the p-value of 0.0644 being higher than expected from the F table. For total hemocytes, T4 with 11.74 was demonstrated as the best treatment and the lowest was T0 with 4.39. Regarding hyaline hemocyte cells, T3 performed better with 28.30% and the lowest amount was T1 with 15.50%. for expressed semi-granulocyte hemocyte cells, T0 with 70.79% performed better, and the lowest results resulted in T4 with 41.30%. In granulocyte hemocyte cells there were no significant differences. In the rate of phagocytosis it was demonstrated that the best treatment was T4 with a result of 38.28 proving to be significant among the other treatments. In the enzyme variable super oxide dismutase, T2 responded in a better way with 41.18 and T0 in a lesser way with 7.71. It is concluded that the results shown finally indicated that the 0.40ml treatment dose of probiotic mixtures improves the immune response of juveniles (<i>Cherax quadricarinatus</i>) for better production.</p>
Descripción:	70 hojas
URL.:	

INTRODUCCIÓN.

La acuicultura se ha considerado en uno de los sectores de producción alimentaria de mayor crecimiento en los países de América Latina extendiéndose de manera continua desde hace dos décadas, relacionándose particularmente con camarones en Ecuador, y demás cultivos de crustáceos que comprende la producción de especies marinas y de agua dulce como langostinos (1).

El *Cherax quadricarinatus* comúnmente es llamado como langosta de quelas rojas es una especie omnívora de agua dulce perteneciente a la familia Parastacidae, nativa del norte de Queensland (Australia) y el Sureste de Paupa Nueva Guinea, la cual tiene gran potencial para la acuicultura, esto se debe a que presenta una alta tasa de crecimiento, con fácil manejo y elevada productividad (2,3). Está bien valorado en el mercado y se utiliza en todo el mundo para consumo humano y fines ornamentales (4). Existen más de 100 especies de este género, pero solo tres de ellos son importantes desde el punto de vista de la acuicultura a nivel mundial: langostino café (*Cherax tenuimanuso*), destructor o yabbie (*Cherax albidus*) y de quelas rojas (*Cherax quadricarinatus*) (5,6). Inicialmente para *C. quadricarinatus*, los rendimientos de producción comercial se ubican alrededor de 1ton/ha/año. Después de más de 20 años de investigación y prácticas, se ha logrado avances significativos en la tecnología de su cultivo incrementando su rendimiento de cosecha a más de 2.5 ton/ha/año (7), presentando excelentes características biológicas.

Con respecto a la práctica de la acuicultura intensiva, es menester destacar que se requiere del control de situaciones de estrés y/o enfermedad, indistintamente de la especie a fin de asegurar la salud y repuesta productiva de los mismos. En este sentido se destacan los probióticos, los cuales surgen como una alternativa a los antibióticos en aras de fortalecer la respuesta del sistema inmune (8,9), supervivencia y crecimiento (10,11,12,13), al combatir los patógenos mediante un mecanismo de exclusión competitiva (14,15). Además de contribuir a una acuicultura respetuosa con el medio ambiente, lo cual ha llegado a que los probióticos alcancen auge como agentes profilácticos y proveedores de una nutrición mejorada (16,17).

En este caso el estudio de las variables inmunológicas asume importancia como medio auxiliar de diagnóstico (18). Por su parte, el conocimiento de tales valores hace posible interpretar repuestas fisiológicas del organismo ante factores como el ecosistema o medio de cultivo, los efectos de la alimentación entre otros (19,20).

Por lo que es una alternativa para tener conocimiento de los problemas que afectan en la producción acuícola en el análisis de variables inmunológicas, lo cual ha demostrado ser un enfoque valioso para analizar el estado de salud de los animales, ya que estos índices proporcionan información confiable sobre trastornos metabólicos, deficiencias y estado de estrés crónico e inmunología antes de que estén presente en un entorno clínico (21).

El propósito del presente estudio fue diseñado para examinar el efecto de mezclas probióticas en indicadores inmunológicos sobre el crecimiento en juveniles de langosta *Cherax quadricarinatus*.

CAPITULO I
CONTEXTUALIZACION DE LA INVESTIGACION

1.1. Problema de investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

Una de las razones por las que no se ha llevado estudios en la repuesta inmune de especies acuícolas como *C. quadricarinatus* en nuestro país, es la inversión para llevar a cabo la toma y procesamiento de muestras, debido a que se requiere de personal capacitado y equipos modernos que permitan la obtención de resultados rápidamente, por lo que el tiempo es crítico a niveles productivos y puede ser perjudicial en el plano económico para los piscicultores en el país, a pesar de que actualmente estos indicadores son herramientas de gran utilidad para conocer el estado de salud y su equilibrio metabólico tanto en vida silvestre como en centros acuícolas (22), además se ha determinado que las modificaciones de los parámetros inmunológicos se utilizan como señalizadores del estado fisiológico de especies acuícolas (23).

Diagnostico.

Los parámetros inmunológicos en los crustáceos indican su estado fisiológico, que a su vez sirve para evaluar el desbalance nutricional, efectos tóxicos, condiciones anóxicas, patógenos, cambios en el medio de cultivo y otros agentes estresantes que se presentan durante los cultivos, sumado a lo anterior se infiere que no existe documentado el efecto del probiótico bacterol en la especie *C. quadricarinatus*.

Pronostico.

Se pudiera alcanzar conocimiento apropiado sobre la inmunología de la especie, lo cual a su vez brinda información sobre la repuesta fisiológica y/o alternativas patológicas como resultados de la aplicación de mezclas probióticos en el cultivo de *C. quadricarinatus*.

1.1.2. Formulación del problema.

¿Cuál será el efecto de la respuesta inmune en juveniles de langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*) alimentados con mezclas probióticas?

1.1.3. Sistematización del problema.

En base a la problemática abordada anteriormente se plantean las siguientes directrices:

- ¿La actividad antioxidante e hipoxia en juveniles de langosta de agua dulce *C. quadricarinatus* serán influenciadas por mezclas probióticas como aditivo alimenticio?
- ¿Cuál es el efecto de mezclas probióticas sobre el nivel de oxihemocianina en los juveniles de langosta de agua dulce *C. quadricarinatus*?
- ¿Cómo se comportará la actividad fagocítica en los juveniles de langosta de agua dulce *C. quadricarinatus* por efecto de mezclas probióticas en la alimentación?
- ¿Cuál es el efecto de mezclas probióticas sobre repuesta de hemocitos en los juveniles de langosta de agua dulce *C. quadricarinatus*?

1.2. OBJETIVOS.

1.2.1. Objetivo General.

- Evaluar el efecto de mezclas probióticas en la alimentación de juveniles de langosta de agua dulce (*C. quadricarinatus*) sobre la modulación de la respuesta inmune.

1.2.2. Objetivos Específicos.

- Determinar la concentración de oxihemocianina en langosta de agua dulce (*C. quadricarinatus*) alimentados con probiótico.
- Cuantificar el contenido de hemocitos totales, hemocitos granulocitos, hemocitos semigranulocitos y hemocitos hialinos en langosta de agua dulce (*C. quadricarinatus*) alimentados con probiótico.
- Evaluar la actividad fagocítica en juveniles de langosta de agua dulce (*C. quadricarinatus*) alimentados con probiótico.
- Analizar el estrés por hipoxia y actividad antioxidante en juveniles de langosta de agua dulce (*C. quadricarinatus*) alimentados con probiótico.

1.3. Justificación.

La información inmunológica constituye un aspecto importante para el desarrollo de tecnología de producción, con lo cual es frecuentemente utilizada para obtener un panorama de la condición fisiológica de los animales y donde es común hablar de cultivos intensivos los cuales incrementa la susceptibilidad de un organismo al sufrir infecciones, enfermedades nutricionales y diversas reacciones al ambiente, convirtiéndose el monitoreo de estos valores en una herramienta útil para medir el estado fisiológico de los langostinos lo que permite realizar la identificación, diagnóstico y control de enfermedades como una herramienta de prevención.

Ya que se desconoce cómo influye el probiótico Baterol-Shrimp Forte en la repuesta inmunológica del *C. quadricarinatus*, el presente estudio tiene como propósito ofrecer información sobre algunos valores inmunológicos como una herramienta valiosa para el establecimiento de los controles sanitarios, el estado fisiológico del organismo, posibles desbalances nutricionales, efectos tóxicos, condiciones anóxicas, cambios ambientales y factores generadores de estrés que se pueden presentar en el proceso de crianza para que favorezca el desarrollo acuícola de esta especie y con futuros estudios.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual.

2.1.1. Acuicultura.

Es un término amplio que abarca la crianza de organismos de agua dulce y salada comprende una gran variedad de formas de vida acuática que se produce a través de esta rama de producción, incluyendo peces, crustáceos, moluscos, algas y plantas (24) .

2.1.2. *Cherax quadricarinatus*.

Langosta de agua dulce de la familia Parastacidae originaria de la región norte de Australia y el sur de Paupa Nueva Guinea. Su aprovechamiento acuícola comenzó fines de la década del 80 y continúa siendo una producción de tipo intensiva y semi-intensiva en expansión (25).

2.1.3. Sistema intensivo.

Se trata de una modalidad de tipo experimental siendo manejada en tanques circulares de alto recambio de agua y alta densidad de siembra en el cultivo.

2.1.4. Metabolismo.

Conjunto de reacciones y procesos físico-químicos que ocurren en una célula que engloban la obtención y utilización de energía.

2.1.5. Hemocitos.

Son las células de la sangre (hemolinfa) de los invertebrados los hemocitos asumen funciones de defensa como la fagocitosis, el encapsulado, la modulación y la coagulación, e intervienen en el metabolismo, síntesis y almacenamiento de nutrientes (26).

2.1.6. Probiótico.

Son microorganismos vivos adicionados que permanecen activos en el intestino en cantidad suficiente como para alterar la microbiota intestinal del huésped, tanto por implantación como por colonización.

2.2. Marco referencial.

2.2.1. Características generales de la langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*).

Los langostinos son un grupo que tiene un papel ecológico importante para la dinámica ambiental de los ecosistemas de los ríos y lagunas, tanto costeras como continentales (27). Son bentónicos (especialmente como juveniles y adultos), y suelen ocupar cuevas, resquicios bajo piedras y raíces sumergidas, donde encuentran refugio y alimento (28).

Las variaciones en la disponibilidad de alimentos son especialmente pronunciadas en ambientes de agua dulce, latitudes altas y entre los ecosistemas de aguas subterránea y superficiales (29,30). Dados estos hábitos alimenticios y el sitio donde radican en la base de la columna de agua, los langostinos representan un componente importante en los procesos de recirculación de energía y nutrientes del sistema bentónico (31). El comportamiento de alimentación (omnívoro / detritívoro) del *C. quadricarinatus* parece permitir la incorporación de una amplia gama de ingredientes de origen animal y vegetal en las formulaciones de dietas prácticas para la acuicultura (32,33,34,35).

C. quadricarinatus es una especie que muestra características biológicas, idóneas para el cultivo que son: Rápido crecimiento, ciclo de vida simple, fácil reproducción, no muestran problemas significativos de enfermedades, es fisiológicamente resistente (puede sobrevivir en agua con baja saturación de oxígeno a temperaturas extremas, por periodos cortos de tiempo), sus requerimientos dietéticos son simple siendo un consumidor omnívoro (36).

2.2.2. Clasificación taxonómica.

La mayor diversidad de la familia Parastacidae está en Australia, comprende catorce géneros, de los cuales nueve están restringidos a Australia e islas adyacentes (37).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del *C. quadricarinatus*.

Reino	Animal
Phyllum	Arthropoda
Subfilo	Crustacea
Clase	Malacostraca
Superclase	Eumalacostraca
Superorden	Eucarida
Orden	Decapoda
Suborden	Pleocyemata
Infraorden	Astacidea
Superfamilia	Parastacoidea
Familia	Parastacidae
Género	<i>Cherax</i>
Especie	<i>Cherax quadricarinatus</i>

Obtenido de: (38)

2.3. La acuicultura en Ecuador.

Ecuador tiene una larga tradición en acuicultura iniciándose en los años 1968 con las primeras camaroneras en la provincia del Oro, la actividad tubo gran realce y para 1974 nuestro país ya contaba con alrededor de 600 hectáreas dedicadas al cultivo de camarón; en los años ochenta, esta actividad creció agresivamente. En 1987 el Ecuador se convirtió en el primer exportador de camarón del mundo, debido a que se volvió en un negocio muy beneficioso donde fueron tomando tierras agrícolas y manglar para la producción de esta especie (39,40).

La producción del camarón en el ecuador se ve afectada debido a las altas demandas de alimentación, así como de dietas para la elaboración de balanceados, es por esto que la afectación de dichos problemas se ven reflejados en la producción no solo de camarón sino de diferentes especies que aún no han sido explotadas a nivel nacional. Otra causa que es porque generan contaminación medioambiental, ya que permiten la proliferación de enfermedades del camarón, y bajas significativamente económicas en los países productores. Cuando mayor sea la intensificación para la producción del camarón se aplicará aumento en el desgaste de los recursos naturales, también se hace más útil la optimización de tecnología, y el conocimiento sobre la biología de la especie y formas de manejo del cultivo para reducir los impactos ambientales, ayudando de esta forma a sostener los recursos naturales (41).

2.3.1. Ventajas biológicas de la *C. quadricarinatus* para la acuicultura.

La langosta de agua dulce es una especie que ha evolucionado para sobrevivir en condiciones adversas, que hacen de ella una especie adecuada para la producción a continuación se presenta las siguientes ventajas biológicas.

- Rápido desarrollo.
- Poseen un ciclo de vida simple, sin estadios larvales libres alcanzando la madures sexual entre 6-9 meses.
- Fisiológicamente robusta (puede sobrevivir en agua de baja saturación de oxígeno o temperaturas extremas, por periodos cortos de tiempo).
- Muestran una fácil reproducción reproduciéndose de 3 a 5 veces por año.
- Elevado factor de conversiones alimenticias FCA.
- Requerimientos nutricionales simples, es omnívoros.
- No tiene problemas significativos de enfermedades.
- Tienen adaptabilidad al manejo en sistemas artificiales, además, el sabor de su carne es agradable y su textura cumple con lo más altos estándares de calidad (42,43).

2.4. Fisiología y morfología.

Al momento en que muda el caparazón, su cuerpo queda blando por un breve periodo, por lo que es recomendable bajo condiciones de cultivo, ofrecerles refugios adicionales para evitar canibalismo; además, este langostino es moderadamente territorial, con mayor acentuación en el estado juvenil (44).

Las hembras pueden desovar varias veces al año y producir miles de huevos en cada desove, que son portadores bajo el abdomen durante su incubación (45), cuya duración depende de la temperatura del agua (46).

2.4.1. Metabolismo.

Los crustáceos al igual que la mayoría de los organismos vivos usan básicamente las mismas reacciones para producir la energía que necesitan para sostener los procesos vitales, los mismos tipos de compuestos y mecanismos para construir sus macromoléculas y los mismos conjuntos de reacciones para sintetizar los compuestos que intervienen en las diferentes reacciones bioquímicas (47). Las células de los crustáceos, y naturalmente de los camarones necesitan un gran número de compuestos preformados los cuales deben estar en la dieta ya sea porque los organismos no son capaces de sintetizarlos (esenciales) o porque son necesarios para cubrir las demandas de energía necesaria para mantenerlos con vida, crecer y reproducirse (47).

El principal recurso energético de este crustáceo es la proteína seguido por los carbohidratos como energía metabólica. Adicionalmente necesita lípidos como elementos fundamentales en la función y estructura celular (48).

El consumo de alimento, el consumo de oxígeno y metabolismo energético son procesos fuertemente relacionados que ocurren en todos los animales; en particular la tasa de consumo de oxígeno en animales acuáticos, es de gran importancia, en los cultivos intensivos y semi-intensivos por lo cual es una herramienta para determinar las tasas metabólicas las cuales frecuentemente se utilizan para analizar la distribución de energía y estrés en los animales acuáticos (49). La tasa de consumo de oxígeno y la actividad enzimática digestiva son indicadores de la capacidad de aprovechamiento de los nutrientes del alimento balanceado en organismos acuáticos (50,51).

La tasa metabólica de los invertebrados depende de varios factores intrínsecos y extrínsecos, los factores intrínsecos incluyen: edad, sexo, peso, grado de actividad locomotora y trabajo interno. Los factores extrínsecos incluyen: temperatura ambiente, fotoperiodo, impacto de estresores y disponibilidad de alimentos. La temperatura ejerce claramente una influencia importante en la tasa metabólica de las especies poiquilotérmicas. Sin embargo, la mayoría de las poiquilothermas muestran mecanismos compensatorios contra el cambio de temperatura; varias especies son incluso capaces de una compensación completa y mantienen su tasa metabólica al mismo nivel que tenían a una temperatura más alta después de un periodo de aclimatación a la nueva temperatura más baja (52). Este proceso, conocido como compensación metabólica, permite a las especies poiquilotérmicas minimizar los

efectos de la temperatura ambiente en los procesos fisiológicos y mantener su nivel de actividad a bajas temperaturas (53).

2.4.2. Sistema inmune.

La hemolinfa de los cangrejos y camarones es un medio adecuado para el estudio de los marcadores de situación nutricional aunque se han realizado muy pocos trabajos dirigidos al diseño y validación de indicadores en camarones peneidos. Los marcadores de situación nutricional que más se han utilizado en hemolinfa han sido las proteínas (54) . En los crustáceos, el componente celular de la inmunidad de los invertebrados acuáticos esta medido por hemocitos son producidos en el tejido hematopoyético (55) y el número total y diferencial de hemocitos son indicadores de alerta inmunitaria (13) y de estado de salud, células móviles que fagocitan microbio y secretan sustancias antimicrobianas y citotóxicas solubles en la hemolinfa (56,57).

De acuerdo con (57) los invertebrados, especialmente los crustáceos, no poseen repuesta inmune específica contra agentes infecciosos, por lo que han garantizado un complejo, eficiente y altamente desarrollado sistema defensivo inespecífico, basado en hemocitos circulantes y en varias proteínas de defensa, sim embargo, no han desarrollado capacidad de memoria inmune, lo que dificulta la utilización de vacunas. Su inmunidad esta medida mayoritariamente por hemocitos con capacidad de reconocer material extraño, fagocitarlos o encapsularlos, siendo su respuesta celular limitada, ya que en ellos solo se han logrado identificar tres tipos de grupos celulares: hemocitos hiliaños, hemocitos semigranulosos y hemocitos granulados, estos hemocitos posee en su interior gránulos en los que están contenidos proteínas de reconocimiento, ataque, adhesión y enzimas reguladora (58).

2.4.3. Actividad enzimática.

Según (59,60) la actividad de las enzimas digestivas ha sido estudiada en varias especies de crustáceos decápodos y se ha demostrado que esta directamente relacionada con la digestion, absorcion de nutrientes, la ontogenia, estadio del ciclo de muda, composición de la dieta, ritmos circadianos, fotoperiodo y calidad de la luz, temperatura del agua, hábitos alimentarios e incluso la adaptabilidad al medio.

Particularmente para funciones fisiológicas, los crustáceos tienen mecanismo de defensa que incluyen procesos antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos cuyas funciones dependen de los niveles de proteínas y lípidos y pueden requerir cantidades óptimas para expresar ese tipo de repuestas contra condiciones estresantes (61)

La SOD es un enzima que posee la capacidad de disminuir el anión superóxido generando como resultado agua y peróxido de hidrógeno. Las SOD se han clasificado en tres grupos mayores, dependiendo del ion metálico que contengan. La Mn-SOD se encuentra en las mitocondrias, la Fe-SOD en bacterias y la Cu/Zn-SOD en eucariotas. La SOD extracelular (EC-SOD) coopera en la destrucción de parásitos ingeridos o encapsulados durante la explosión respiratoria generada durante la fagocitosis (62,63).

2.5. Probióticos.

Los probióticos para peces, camarones, langostas etc. son bacterias beneficiosas que forman colonias en el tracto intestinal, en el hospedador constituyendo la primera línea de defensa del organismo como un medio para ayudar a controlar la salud y evitar enfermedades potencialmente patógenas; estos han sido empleados para mejorar el crecimiento, rendimiento y producción de varias especies de animales entre ellas crustáceos (64). Y de la calidad del ambiente (65). Actúan como un facilitador para digerir todos los componentes de la proteína, lo que a su vez sintetiza las enzimas requeridas responsables de aumentar la actividad proteasa de los camarones y la digestibilidad de los alimentos (66).

La mayoría de los probióticos propuestos contienen diferentes tipos de bacterias, bacteriófagos, microalgas y levaduras que se han utilizado para el uso en acuicultura muchos pertenecen a las bacterias ácido láctica (*Lactobacillus* y *Carnobacterium*), (67,68) a los generos *Vibrio* (*V. alginolyticus*) (69), *Bacillus* y *Pseudomonas*, principalmente.

Los principales argumentos para la utilización del género *Bacillus* como aditivos de piensos para la acuicultura (70) es que se trata de bacterias cosmopolitas, que se encuentran en el suelo, el agua dulce y agua de mar, y también en los tractos gastrointestinales de crustáceos, peces, animales terrestres e incluso los seres humanos, además *Bacillus* puede producirse en concentraciones muy elevadas a un costo moderado en comparación con bacterias que no producen esporas.

Los brotes de enfermedades son una limitación importante para la industria de la acuicultura y, por lo tanto, la mayoría de los estudios de detección de probióticos se centran en la capacidad de antagonismo contra los patógenos (71,72).

2.5.1. Mecanismo de acción de los probióticos.

Los probióticos muestran diversos mecanismos de acción, ya sea, modificando la comunidad microbiana, morfología intestinal asociada al mismo o a su ambiente, garantizando un progreso en el uso del alimento o un aumento en el valor nutricional permitiendo que el organismo absorba más nutrientes, además de incrementar la repuesta inmune del hospedador a las enfermedades (73).

En el tracto digestivo de un camarón, las enzimas del género *Bacillus* mejora la actividad específica de la lipasa, la proteasa y la amilasa (74). Siendo muy eficiente para digerir una gran variedad de carbohidratos, lípidos y proteínas en unidades más pequeñas (75).

El intestino del cangrejo de río se considera el centro de digestión y absorción de nutrientes, mientras que las comunidades microbianas presentes en el intestino distal desempeñan un papel vital en la digestión y la inmunidad (76).

2.5.2. Mejora de la calidad de agua.

Según (77) las bacterias del género *Bacillus* seleccionados como probióticos pueden convertir la materia orgánica en CO₂. en contraste con las bacterias Gram-negativas que se caracterizan por convertir materia orgánica en biomasa bacteriana o limo (78) comprobando la capacidad de tres aislados del género *Bacillus* para disminuir las concentraciones de nitritos, nitratos y amonios en el agua.

Tabla 2. Requerimientos de calidad del agua para el cultivo de *C. quadricarinatus*..

PARAMETRO	NIVEL
Oxigeno	> 4 mg/l
Dureza	< 50 mg/l Inadecuado 50-100 mg/l Aceptable 100-200 mg/l Excelente 200-600 mg/l Aceptable.
Alcalinidad	> 50 mg/l
Temperatura	< 16oC. El crecimiento y la reproducción se detienen. 17-22oC. El crecimiento y la reproducción se reducen. 23-32oC. El crecimiento y la reproducción son óptimos. > 32oC. Efectos negativos en la sobrevivencia y el desarrollo embrionario.
pH	< 7. Probablemente exceso de materia orgánica. Suelos ácidos. 7-9. Normal > 9. Productividad excesiva. >10. Inhibición de reproducción, reducción de crecimiento. Incremento en la mortalidad.
Amonio	< 1 mg/l. Optimo. > 1 mg/l. Inhibición de reproducción, reducción de crecimiento. Incremento en la mortalidad.
Salinidad	< 6 ups.
Metales pesados	No deben estar presentes. De existir, no deben rebasar 1 mg/l.
Pesticidas	Libre de pesticidas, particularmente los insecticidas.

Fuente: (79).

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Acuicultura de la finca experimental “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ) situada en el km 7 de la Vía Quevedo – El Empalme, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. Se encuentra entre las coordenadas geográficas 01° 06’ de latitud Sur y 79° 27’ de longitud Oeste. A una altitud de 120 msnm con una temperatura media de 24 °C.

3.1.2. Condiciones meteorológicas.

Las condiciones meteorológicas donde se realizó la investigación se detallan a continuación:

Tabla 3. *Condiciones meteorológicas en la finca experimental “La María” UTEQ*

Datos meteorológicos	Valores promedio
Temperatura °C	24 °C
Humedad relativa %	78%
Heliofanía horas/luz/año	742 horas/luz/año
Precipitación anual	2230.80 mm
Evaporación (cm ³ anual)	938.20
Zona ecológica:	Bosque húmido tropical (bh-T)

Fuente: estación meteorológica del INAMHI ubicada en la Estación Experimental Tropical Pichilingue de INIAP (2019).

Elaborado por: Mera Gómez

3.2. Tipo de investigación.

La investigación titulada: Modulación de la respuesta inmune en juveniles de langosta de agua dulce *C. quadricarinatus* alimentados con mezclas probióticas. Fue de Tipo Experimental, tributa a la línea de investigación para aplicarla en un sistema de producción intensivo.

3.3. Métodos de investigación.

3.3.1. Método de observación.

Se aplicó a través del método de observación donde cada una de las variables fueron medidas con efecto en la respuesta inmune de la langosta de agua dulce *C. quadricarinatus* sobre el uso de mezcla de probiótico en la alimentación de juveniles de langosta aplicando un sistema de producción intensivo.

El método experimental dio la pauta, para estudiar cada una de las variables evaluadas, y se determinó los mejores tratamientos con la aplicación del análisis de varianza y la prueba de Tukey.

3.3.2. Método descriptivo.

Se evaluó el efecto del probiótico (Bacterol- shrimp forte) para describir la respuesta inmune en *C. quadricarinatus*.

3.3.3. Método inductivo.

Se efectuó un ensayo (trabajo de campo) de acuerdo con los objetivos establecidos en el trabajo de investigación, mediante el cual se obtuvo los respectivos resultados y conclusiones.

3.4. Fuentes de recopilación de información.

Los datos experimentales fueron adquiridos de fuentes:

Primarias: La información primaria se obtuvo a través de la observación directa al tratamiento.

Secundarias: La información mostrada en el marco conceptual y referencial se tomó de diversas fuentes secundarias como:

Revistas científicas.

Artículos.

Libros.

Tesis.

3.5. Diseño de la investigación.

Para el presente estudio se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), con 6 tratamientos y 3 repeticiones, con 20 especímenes por cada repetición en un proceso de crianza de 60 días más la utilización del probiótico Bacterol Shrimp Forte, se utilizó el proceso de rangos múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$), y el modelo estadístico del diseño que se utilizó para esta investigación, es el siguiente:

3.5.1. Esquema del análisis de Varianza.

Tabla 4. Esquema del analisis de varianza.

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamiento	t-1	5
Error experimental	tx (r-1)	12
Total	(t x r)-1	17

ELABORADO: AUTOR

3.5.2. Modelo Matemático.

$$Y_{(ij)} = \mu + t_i + \epsilon_{j(i)}$$

Donde:

Y = es la variable de repuesta de interés.

μ = promedio general de la población sobre la cual se está trabajando

t = es la variación que se atribuye a los niveles del factor que se está evaluando (efecto de los tratamientos)

ζ = es la variación de los factores no controlados (el error experimental)

i = i –ésimo tratamiento

j = j –ésima repetición de cada tratamiento

$j(i)$ = es la valoración de las unidades experimentales anidado en los tratamientos

3.6. Instrumentos de Investigación.

3.6.1. Condiciones de cultivo de los juveniles de langosta.

Los juveniles se seleccionaron en función a la edad requerida para la siembra a partir del desove de hembras reproductoras y se distribuyeron al azar en las unidades experimentales para lo cual se utilizaron tanques de plásticos con un diámetro de 1.7m y área de 2.26 m², en total se utilizaron 18 tanques circulantes, cada tanque poseían distribución de agua dulce, energía eléctrica para los termostatos y aire, en cada uno de los tanques se colocaron escondrijos de malla de nylon esto debido a la necesidad de que los acociles estén libres de estrés y pérdidas potenciales por canibalismo. El periodo de cultivo fue de 60 días, donde eran alimentados a base de alimento balanceado comercial (35% proteína) en base al 5% de la biomasa siendo dividida en dos raciones de 50% a las 9:00 horas y 50% a las 17:00 horas, y mezcla probiotica Bacterol Shrimp Forte. El probiótico Bacterol Shrimp Forte paso por un periodo de incubado (relación: 1.5 : 10 : 3x10³: probiótico: melaza: agua destilada), por un tiempo de 24 horas antes de ser suministrado a las langostas, el cual se suministraba cada 3 días. Para el recambio de agua de los tanques experimentales se lo cumplía cada 3 días, para separar las heces y restos de residuos alimenticios de los tanques.

Las biometrías se las realizo cada 15 días hasta cumplir con el periodo de los 60 días, para las medidas se empleó un calibrador o pie de rey que determina la talla de los juveniles, y una balanza analítica para obtener el peso, antes de la biometría eran anestesiados con eugenol, de esta manera los juveniles de langosta quedaban inmóvil para así proceder a medir la longitud que va desde la cola el primer segmento del abdomen hasta el extremo posterior del telson y pesar.

Durante el período que duró el experimento se realizó el control de los parámetros físico-químicos del agua cada quince días, la temperatura del agua se midió utilizando un termómetro de mercurio, que se introdujo al agua de cada tanque por un tiempo de tres minutos, por otra parte, para medir el oxígeno disuelto (OD) se utilizó un oxímetro digital. Mediante el kit: Saltwater Máster Test, y siguiendo las instrucciones de uso, se midió el pH, la cantidad de amonio (NH₃/NH₄), nitritos (NO₂⁻) y nitratos (NO₃). Los valores de temperatura estaban entre 27.0 y 32.0°C esto se debe a que se incorporó un termostato, pH 7.0-8.0. El oxígeno disuelto (OD) presento valores de 4.7 a 6.2 mgL⁻¹. amonio desde 0 a

0.25 ppm. El nitrito en un 0 ppm valor que se mantuvo durante los 60 días que duro el experimento y el nitrato en un 0 a 10 ppm.

3.6.2. Extracción de Hemolinfa.

Para la extracción de hemolinfa se colocó el organismo en posición ventro-dorsal (“boca arriba”) dejando expuesta la zona de unión entre cefalotórax y abdomen (seno hemolinfático ventral), luego se desinfectó la superficie con alcohol al 90%.

La extracción se realizó con jeringas estériles nuevas para insulina (27G x 13 mm) con aguja hipodérmica por la parte del vientre que corresponde el primer segmento de los pleópodos, ligeramente inferior al poro genital de los juveniles. La jeringa se la introdujo con cuidado direccionando el bisel de la aguja hacia arriba y al mismo tiempo se absorbió, extrayendo hemolinfa por cada juvenil; seguidamente se homogenizó para evitar la coagulación de la hemolinfa.

La jeringa se cargó utilizando anticoagulante SIC-EDTA (NaCl 450 mM, KCl 10 mM, Hepes 10 mM, EDTA 10 mM, pH 7.3) a 4°C, para conservar una proporción de 2:1 (2 volúmenes de SIC-EDTA por cada volumen extraído de hemolinfa) (80). La muestra extraída en cada jeringa se colocó en microtubos de polipropileno Eppendorf estériles de 1.5 mL, debidamente rotulados. Posteriormente se diluyeron en una proporción de 3:1 (150 µL de formaldehído (4%) por 50 µL de la mezcla de anticoagulante y hemolinfa), que se almacenaron a 4°C para realizar el conteo total de hemocitos.

3.6.3. Cuantificación de Hemocitos.

Como el volumen de hemolinfa que contenían los microtubos no era exacto y homogéneo, se tuvo en cuenta el factor de dilución al momento de hacer el conteo y registrar los resultados. Para determinar el factor de dilución se registró la cantidad total de hemolinfa anticoagulada con formaldehído con la ayuda de jeringas de 1 mL nuevas.

El factor de dilución se calculó teniendo en cuenta el volumen de hemolinfa coagulada con formaldehído entre el volumen de hemolinfa total.

Ecuación 1

Factor de dilución = Vol. Ha (μL) / Vol. H (μL)

Donde:

Vol. Ha = volumen de hemolinfa anticoagulada (extracción inicial de hemolinfa + solución SIC-EDTA + formaldehído)

Vol. H = volumen de hemolinfa extraído (Vol. Ha – EDTA – formaldehído)

El conteo total de hemocitos se ejecutó manipulando 20 μL de la mezcla (cámara) y se utilizó un microscopio de luz para el conteo total.

Para el montaje de hemolinfa con anticoagulante y formaldehído en un hematocitometro (cámara de Neubauer) primero se hizo una limpieza con la ayuda de toallas de papel humedecidas en agua destilada, se trató en lo posible de eliminar todos los residuos tanto de la superficie de la cámara como de la laminilla de cuarzo. Posteriormente, se colocó con mucho cuidado la laminilla sobre la cámara cubriendo las cuadrículas. Con la ayuda de una micropipeta (1-200 μL) se tomaron 20 μL del contenido de hemolinfa anticoagulada con formaldehído y se depositaron sobre el pozo de la cámara, dejando que se esparciera lentamente el contenido por capilaridad. Para el análisis de cada muestra se utilizaron puntas estériles diferentes y se llenaron los dos pozos (inferior y superior) simultáneamente con muestras de hemolinfa diferentes. De manera inmediata, se colocó la cámara de Neubauer en un microscopio de contraste de fase y se observó con el objetivo 40X (y oculares 10X = 400X).

Se ubicaron los cinco cuadrantes pequeños de la cámara y el recuento se hizo con base en los cuatros cuadros de las equinas y el central. Para llevar la cuenta de los hemocitos totales y diferencial se utilizó un contador celular mecánico rotulado.

Para determinar el recuento total de hemocitos para cada muestra analizada se realizó la siguiente ecuación:

Ecuación 2

Recuentos de hemocitos totales (CHT) = CH x 400 x 10 x 12 / 80

Donde,

HC = número de células hemocitos contados en los 5 cuadrantes

400 = cuadrículas pequeñas contenidas en la cámara (16 x 25 cuadrantes)

10 = ajuste por profundidad de la cámara (0.1 mm x 10 = 1 mm)

12 = factor de dilución del anticoagulante y formaldehído (1:1)

80 = total de cuadrículas por los 5 cuadrantes contados (16 x 5)

La fórmula hemocitaria diferencial (HD): (cuantificación de hemocitos hialinos, semigranulosos y granulosos) fue determinada según los criterios morfológicos detallados en (81).

Ecuación 3

Conteo Hemocitos diferenciales (CHD, %) = (HD / CHT) X 100

Donde,

HD: hemocitos diferencial

3.6.4. Actividad fagocítica.

Los efectos del experimento de alimentación sobre la tasa de fagocitosis se evaluaron por protocolo establecido (82); (83) . Se extendió hemolinfa fresca (40 µl) en un portaobjetos de vidrio. A continuación, los portaobjetos se incubaron hasta secar la hemolinfa. Mientras tanto, solución de trabajo zymosan (Sigma Aldrich, Z4250) se preparó disolviendo 0.0125 g de zymosan en polvo en 25 mL de agua de mar estéril. Las muestras secas de hemolinfa en portaobjetos de vidrio se trataron luego con una cantidad similar de solución de trabajo de zymosan (40 µl) y se secaron al aire. Las muestras se trataron con una solución de formaldehído al 10% (disolvente de agua de mar) durante 20 min. Posteriormente, los portaobjetos de vidrio se transfirieron a una solución de GIEMSA durante 20 min de incubación para la tinción celular. La tasa fagocítica se determinó mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 4

Tasa fagocítica = (hemocitos fagocíticos / hemocitos adheridos totales) × 100.

3.6.5. Concentración Oxihemocianina

Se empleó 20 µl de hemolinfa diluida con 80 µl de SIC-EDTA en una cubeta espectrofotométrica de cuarzo de 1cm³ y se leyó la absorbancia a 335nm con espectrofotómetro con lámpara de luz UV (Hach). La concentración de oxihemocianina de cada muestra se calculó mediante la siguiente ecuación (84,85).

Ecuación 5

Concentración de oxihemocianina en la hemolinfa (mmol/l) = (ABS_{335nm} / E) x FD.

Donde,

ABS_{335nm} = es el valor de absorbancia a 335 nm obtenido para la muestra,

E = 17.26. determinado en base a una subunidad mínima funcional de 74.000 kDa de la hemocianina de crustáceos (84).

FD: es el factor de dilución.

Los valores de concentración fueron expresados en mmol/l.

3.6.6. Estrés por Hipoxia.

Para la prueba de hipoxia se siguió el protocolo de Rodríguez-González *et al.*, (86); al finalizar el bioensayo de cultivo, se tomaron seis organismos por cada tanque experimental para la prueba de estrés por hipoxia y determinar la supervivencia. Se emplearon un total de 18 recipientes de plástico de 200 mL. La eliminación del oxígeno disuelto (<0.1 mg/L) en el agua se realizó mediante la adición de Bisulfito de Sodio (0.15 g/ 500 ml). Los juveniles fueron expuestos a hipoxia, por un periodo de 1 hr y se realizaron muestreos cada 5 minutos para registrar el número de organismos vivos y muertos. La tasa de supervivencia por hipoxia se determinó mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 4

Tasa de supervivencia por hipoxia = (juveniles al inicio de la prueba/ juveniles al final de la prueba) × 100.

3.6.7. Superóxido Dismutasa.

Se determinó mediante la utilización de un Kit RANSOD (RANDOX), a partir de la metodología de Plagia y Valentine (87), el cual se fundamenta en la oxidación de la glutatión (GSH) por el hidroperóxido de cumeno catalizado por la GPx; en presencia de glutatión reductasa (GR) y NADPH, el glutatión oxidado (GSSG) es inmediatamente convertido a su forma reducida con la concomitante oxidación de NADPH a NADP+, midiéndose la disminución de absorbancia a 340nm por la desaparición de NADPH.

3.7. Tratamientos de Datos.

En la presente investigación se estudió seis niveles de probióticos en diferentes dosis de aplicación en la alimentación de juveniles de langosta de agua dulce *C. quadricarinatus* con tres repeticiones cada una (Tabla 6), esta investigación se emplea para conocer el nivel más conveniente y cual obtiene mayores beneficios.

El análisis de datos se realizó mediante el análisis de varianza (ANDEVA) y las medias separadas mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), con el uso del paquete estadístico InfoStat (88) en el cual se recurrió a manipular gráficos de barras para mostrar las proporciones de los componentes del probiótico.

Tabla 5. Esquema del experimento.

TRATAMIENTOS	NIVELES DE BACTEROL	REPETICIONES (Tanques)	NUMERO DE LANGOSTA
T0	0 ml de Probiótico /90 litros de Agua	3	20
T1	0.10 ml de Probiótico /90 litros de Agua	3	20
T2	0.20 ml de Probiótico /90 litros de Agua	3	20
T3	0.30 ml de Probiótico /90 litros de Agua	3	20
T4	0.40 ml de Probiótico /90 litros de Agua	3	20
T5	0.50 ml de Probiótico /90 litros de Agua	3	20

ELABORADO: AUTOR.

3.8. Recursos Humanos y Materiales.

3.8.1. Recursos humanos.

Talento humano que contribuyó en la elaboración del presente proyecto de investigación:

- Dr. Yuniel Méndez Martínez (Director del proyecto de Investigación).
- Mera Gómez Henry Alejandro (Estudiante y Autor del proyecto de investigación).
- Jean Carlos Ponce Muñoz (Estudiante colaborador).

3.8.2. Materiales e insumos.

A continuación, se mencionan materiales, equipos e insumos empleados para la investigación Juveniles *Cherax quadricarinatus*.

- Probiótico, Bacterol Shrimp Forte.
- EDTA.
- Estufa.
- Balanza analítica.
- Recipientes de plástico.
- Pie de rey digital.
- Tanques de plásticos (100 L).
- Tubos PVC.
- Termómetro.
- Kit colorímetro.
- Medidor de oxígeno.
- Termostato.
- Pipeta.
- Guantes.
- Algodón.
- Tijera quirúrgica.
- Hielera.
- Metabisulfito de Sodio.
- Bomba para agua.
- Cámara Neubauer
(hematocitómetro).
- Microscopio.
- Formaldehido.
- Bolsas plásticas.
- Jeringas de 1 mL.
- Porta objeto.
- Cubre Objeto.
- Solución GIEMSA.
- Tubos de ensayo.
- Melaza.
- Ortotolidina.
- Eugenol.
- Alcohol.
- Espectrofotómetro.
- Tubos Eppendorf.
- Micropipetas.
- Centrifuga.

CAPITULO IV
RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Respuestas inmunológicas en juveniles de langosta.

4.1.1. Oxihemocianina.

En la variable oxihemocianina observamos que en la tabla 6. No hay diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos, sin embargo se muestra valores inferiores (Testigo, T1, T4) y superiores (T2 0.84mmol/L; T3 0.82mmol/L) durante el periodo que tuvo su duración de 60 días. Villanueva (89) en su estudio de Hemocitos y oxihemocianina en hembras de *Cryphiops caementarius* Molina 1782 (Crustacea: Palaemonidae) criadas a diferentes salinidades, obtuvo resultados significativos en la concentración de oxihemocianina, en hembras criadas con una salinidad de 12% (5.619) valores superiores a los obtenidos en la presente investigación, en cambio con una salinidad de 6% (0.228) la concentración de oxihemocianina fue menor.

4.1.2. Hemocitos.

Para el conteo total de hemocitos (Tabla 6) obtenido al final del experimento en los langostinos tratados con diferentes dosis de probióticos, se observó un incremento significativo ($p > 0.05$) en el T4 11.74 (0.30 de mezcla de probiótico). Sirirat Rengpipat et al (9) en su trabajo de investigación Mejora de la inmunidad en el camarón tigre negro *Penaeus monodon* / por una bacteria probiont *Bacilo S11* /. Obtuvo significancia ($p < 0.05$) en sus tratamientos que tuvo una duración de 60 días obteniendo como valor más alto 5.5 valores inferiores a los obtenidos en este estudio, con el mismo se demuestra que el producto probiótico Baterol-SHRIMP tiene efecto en la repuesta inmune de los juveniles *Cherax quadricarinatus*.

En las células hemocitos hialinas de los tratamientos hubo diferencia significativa (< 0.05) en T3 28.30 % (con 0.30% de probiótico) como el tratamiento experimental que obtuvo mejores porcentaje de células hemocitos hialinas, seguido del T4 que presentó un valor de 25.86% y como último el T1 presentando un valor de 15.50%.

En este estudio, las células hemocitos semi-granulocitos se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) T0 60.79% (tratamiento control sin probiótico) como el tratamiento experimental que obtuvo mejores resultados, seguido del T1 54.22%, y por último que presentó el promedio más bajo T4 con un 41.30%. Gina Saptiani et al (90) en su trabajo Respuesta del perfil de hemocitos en camarón tigre negro (*Penaeus monodon*) frente a *Vibrio harveyi* inducida por extracto de hojas de *Xylocarpus granatum*. Obtuvieron valores inferiores

56.67% con el (T Etanol al D-21 inducida por *X. granatun* a una concentración de 1.000 ppm.) sin embargo en los tratamientos agua destilada utilizando la misma concentración se obtuvieron promedios similares a los demás tratamientos de esta investigación.

Tabla 6. Parámetros de modulación de la respuesta inmune en juveniles de langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*) alimentados con mezclas probióticas.

VARIABLES	Testigo	0.10mL de probiótico	0.20mL de probiótico	0.30mL de probiótico	0.40mL de probiótico	0.50mL de probiótico	F	Significancia (p-valor)
	T0	T1	T2	T3	T4	T5		
Oxihemocianina (mmol/L)	0.66 ± 0.07a	0.63 ± 0.03a	0.84 ± 0.8a	0.82 ± 0.05a	0.73 ± 0.04a	0.71 ± 0.15a	3.02	0.0644
Hemocitos Totales (millón de células / ml)	4.39 ± 1.14b	6.35 ± 2.86ab	5.84 ± 3.18ab	9.27 ± 1.94ab	11.74 ± 2.48a	8.16 ± 1.62ab	4.94	0.0342
Células hemocitos hialinas (%)	15.71 ± 2.48b	15.50 ± 2.68b	21.72 ± 5.91ab	28.30 ± 4.03a	25.86 ± 3.99ab	21.41 ± 3.19ab	4.94	0.0306
Células hemocitos Semi Granulacitos (%)	60.79 ± 6.20a	54.22 ± 2.17ab	51.39 ± 5.21ab	42.79 ± 3.66b	41.30 ± 6.62b	52.66 ± 7.42ab	5.32	0.0121
Celulas hemocitos Granulacitos (%)	23.50 ± 3.86a	30.27 ± 4.71a	26.88 ± 3.58a	28.91 ± 1.08a	33.17 ± 3.60a	25.93 ± 4.68a	2.46	0.1057
Tasa de Fagocitosis (%)	15.89 ± 5.22c	18.64 ± 0.70bc	29.61 ± 10.61b	24.87 ± 5.51bc	38.28 ± 10.73a	26.44 ± 2.50bc	3.37	0.0430

ELABORADO: AUTOR

No se observó diferencia significativa en la variable células hemocitos granulocitos, sin embargo se presentó un mayor incremento en el T4 33.17%. A diferencia de Cabrera et al (91) en su estudio Efecto de dietas con alta concentración de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la proliferación de hemocitos en camarones *Cryphiops caementarius* machos. Si encontró diferencia significativa ($p < 0.005$) 31.44% (6% de levadura a los 28 días de cultivo) valores que son inferiores a los obtenidos en el presente estudio.

4.1.3. Fagocitosis.

El efecto del probiótico Baterol-SHRIMP sobre la actividad fagocitosis en los juveniles *C. quadricarinatus* se muestra en el tabla 6. Presentando una actividad fagocitaria significativamente mayor ($p < 0.05$) T4 con 38.28% (0.30%% de mezcla probiotica) con respecto al T0 15.89 siendo el de menor porcentaje, Z. Xia et al (92) en su estudio Efectos del probiótico *Arthrobacter* sp. CW9 sobre la supervivencia y el estado inmunológico del camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Obtuvo promedios significativos ($p < 0.05$) con mayor valor T1 55.5%.

4.1.4. Hipoxia.

Al realizarse los análisis estadísticos de la variable Hipoxia según el gráfico 2 si hubo diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$) se muestra que el mejor resultado entre los tratamientos fue el T4 (0.40% en mezcla de probiótico) 76.19%, seguido del T2 con 66.67%, T5 con 66.67%, T3 con 57.14%, T1 con 28.57% en el valor de las medias y T0 con 9.53%. La inclusión de probiótico al 0.40% influyó en el porcentaje de hipoxia de los juveniles (*C. quadricarinatus*).

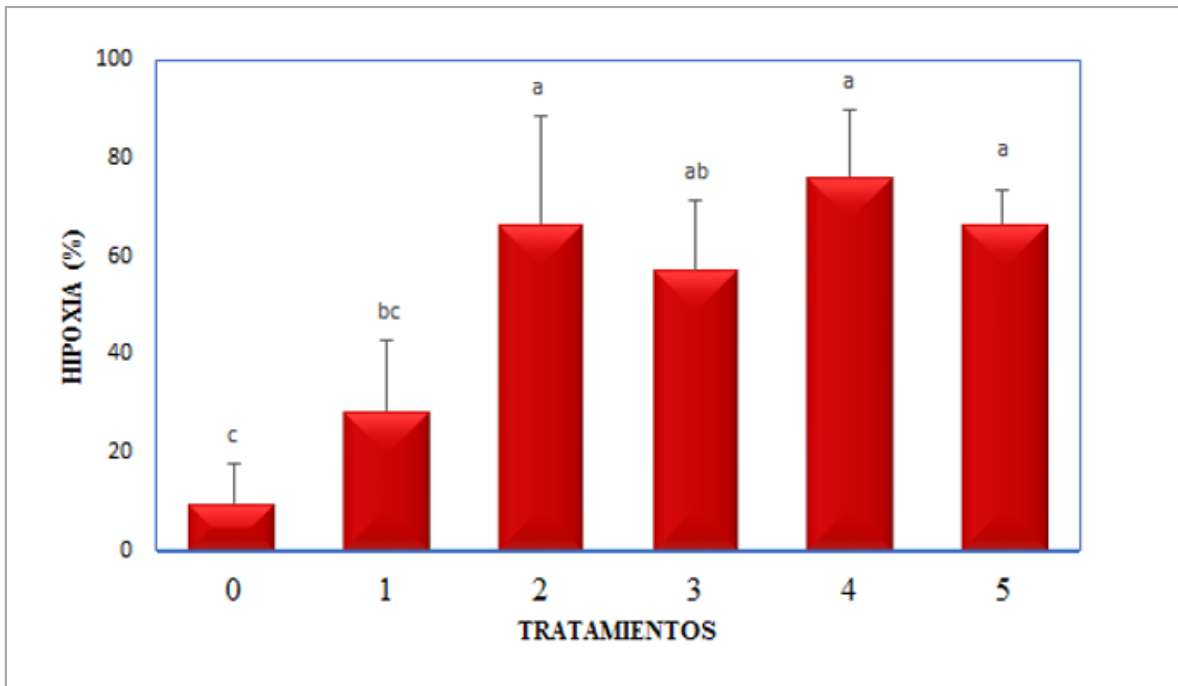


Grafico 1 Hipoxia en juveniles de langosta (*C. quadricarinatus*) alimentados con mezclas probióticas.

Rodríguez Hervey (93), en su trabajo con juveniles de langostas de agua dulce (*C. quadricarinatus*) producidos por hembras alimentadas con cuatro niveles de proteínas (PC; 18. 25. 31. 37%) y dos niveles de lípidos (LIP; 3 y 7%) en un periodo de 50 días, presentado el cuarto nivel valores de, 50.00 (37%PC/3LIP) y 58.33 (37%PC/7LIP) siendo estos valores inferiores a los que se obtuvieron en la presente investigación con mezcla de probiótico influyendo en la variable hipoxia demostrando la efectividad del producto añadido a los juveniles *C. quadricarinatus*.

4.1.5. Superóxido dismutasa.

La actividad Enzima Superóxido dismutasa se presenta en el grafico 2. Los resultados muestran que la alimentación con diferentes dosis de probiótico indujo diferencias significativas ($p < 0.05$) en la actividad de la SOD a lo largo de todo el experimento el mayor contenido de SOD se observó en juveniles de langostinos del T2 41.18 (Unidad/ mL) alimentados con 0.20% de mezclas probitoico. Soberanes-Yepiz (94), en su trabajo la actividad de la superóxido dismutasa en tejidos de langostinos de río cauque (*Macrobrachium americanum*) alimentados con diferentes niveles de proteínas y lípidos.

También obtuvo diferencia significativa como resultado de la alimentación, los animales acuáticos con deficiencias nutricionales son propensos al estrés oxidativo causado por temperaturas extremas, hipoxia, contaminación o exposición a xenobióticos y alimentación (94).

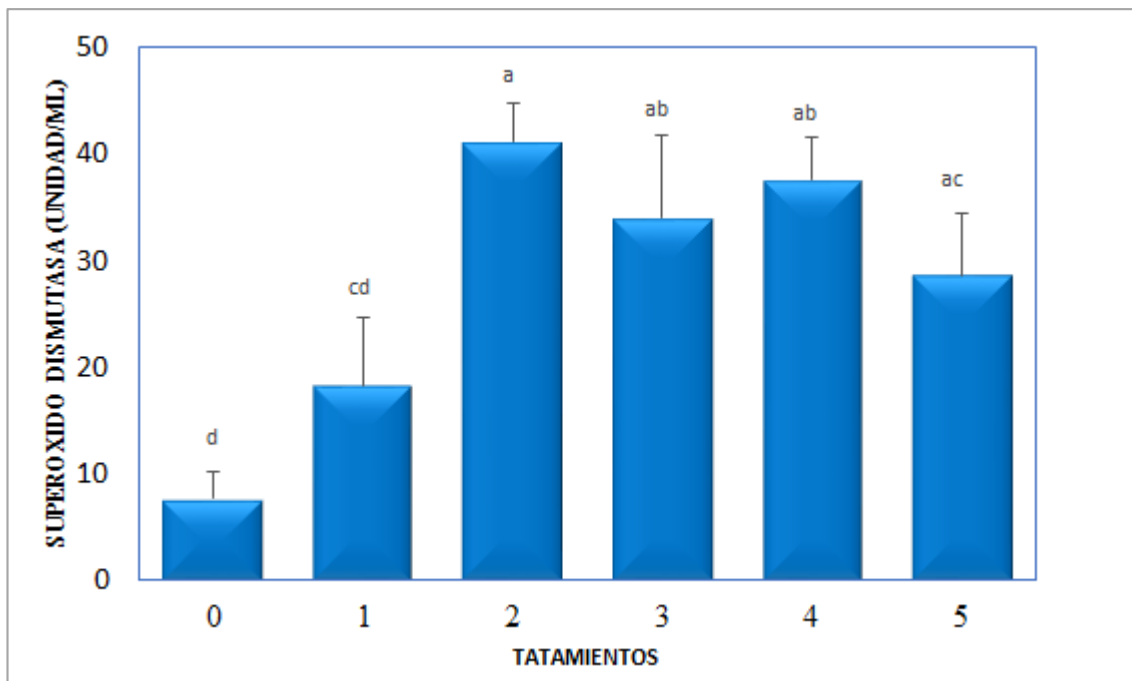


Grafico 2 Enzima superóxido dismutasa en juveniles de langosta (*C. quadricarinatus*) alimentados con mezclas probióticas

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

- Los niveles de oxihemocianina aumentaron ligeramente a lo largo del experimento pero no se presentaron diferencias significativas en cuanto a su comportamiento, es decir que el uso del probiótico no infirió en el transporte del oxígeno en la hemolinfa de los juveniles de langosta de *Cherax quadricarinatus*.
- El aumento de hemocitos totales en la hemolinfa en juveniles de langosta de (*Cherax quadricarinatus*) se logró bajo contextos de este estudio permitiendo manifestar resultados positivos adicionando el tratamiento 4 que consistía en una dieta alimenticia con mezcla de 0.40mL de probiótico que permitió el aumento de 4.39 a 11.74 demostrando que hubo diferencia significativa. Las dietas para valorar el % de Células hemocitos Granulocitos se vieron afectadas ya que no presentaron diferencias significativas al momento del manejo del experimento. El NTH es considerado como un parámetro inmunitario indicador del estado de salud y que se presenta como una opción viable importante en el diagnóstico de enfermedades bacterianas en el (*Cherax quadricarinatus*).
- En este estudio se demostró como la actividad fagocitaria responde de manera significativa al tratamiento 4 (0.40 ml de probiótico) con 38.28% contribuyendo a sus mecanismos de defensa, mostrando un incremento en comparación con el T0.
- La enzima Super óxido dismutasa y la hipoxia demostró estimular el sistema inmune de los juveniles de langosta de (*Cherax quadricarinatus*) ya que en ambas variables se demuestran incrementos al utilizar el tratamiento 4 que consistía en una dieta de 0.40ml del probiótico, estos valores son comparados logrando diferencias significativas en el índice inmunitario general con respecto al tratamiento control.

5.1.1. Recomendaciones.

- Se recomienda seguir haciendo experimentos a nivel inmunológico, utilizando alimento balanceado con adición de diferentes probióticos, en el *Cherax quadricarinatus*
- Así mismo se recomienda realizar experimentos para valorar y mejorar la respuesta inmune
- Aunque este trabajo está basado en especial en la especie *C. quadricarinatus* puede ser aplicado a otras especies y sistemas de explotación, tomando la esencia de la información y adaptándola al nivel que se trate.

CAPITULO VI
BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFÍA

1. FAO. Taller Técnico Regional: Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura, Factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. 2007;: p. 1-2.
2. Lawrence C, Jones C. Cherax. En D. M. Holdich (Ed.), Biology of freshwater crayfish. Oxford. Blackwell Science. 2002;: p. 645-666.
3. Cortés-Jacinto E, Villarreal-Colmenares H, Rendón-Rumualdo M. Efecto de la frecuencia alimenticia en el crecimiento y sobrevivencia de juveniles de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) (Decapoda: Parastacidae). Hidrobiológica. 2003; 13: p. 151-158.
4. Luchini L, Panné-Huidobro S. Perspectivas en acuicultura: nivel mundial, regional y local. Dirección de Acuicultura Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 2008;: p. 98.
5. Mendoza-Alfaro RE, Rodríguez-Almaraz GA, Castillo-Alvarado. SA. Riesgo de dispersión y posibles impactos de los acociles australianos del género *Cherax* en México. Universidad Autónoma de Nuevo León, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio), México. 2011;: p. 140.
6. Saoud IP, Ghanawi J, Thompson KR, Webster CD. A review of the culture and diseases of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens 1868). Journal of the World Aquaculture Society. 2013; 44: p. 1-29.
7. Villareal H, Naranjo-Páramo J. Cultivo de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Red Claw). Una oportunidad para la diversificación de la industria acuícola. 2006;: p. 2.
8. Jiqui-Li. , Beiping-Tan. , Kangsen-Mai , Qinghui-Ai , Wenbing-Zhang , Wei-Xu , et al. Comparative study between probiotic bacterium *Arthrobacter* XE-7 and chloramphenicol on protection of *Penaeus chinensis* post-larvae from pathogenic vibrios. Aquaculture. 2005; 253(1-4): p. 140-147.
9. Sirirat- Rengpipat , Sombat- Rukpratanporn , Somkiat- Piyatiratitivorakul , Piamsak - Menasaveta , S. Rengpipat , col. Acuicultura, Mejora de la inmunidad en el camarón tigre negro *Penaeus monodon* / por una bacteria probiótica *Bacilo* S11 /. Acuicultura. 2000;(191): p. 271-288.
10. Farzanfar A. The use of probiotics in shrimp aquaculture. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 2006; 48: p. 149-158.
11. Zhou XX, Wang YB, Li WF. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. Aquaculture. 2009; 287: p. 349-353.
12. Balcazar JL, I. dB, Ruiz-Zarzuela I, Cunningham D, Vendrell D, Muzquiz JL. The role of probiotics in aquaculture. Veterinary Microbiology. 2006; 114: p. 173-186.

13. Gullian M, and Rodríguez J. Estudio de las cualidades inmunoestimulantes de nuevas bacterias probióticas asociadas al cultivo de *Litopenaeus vannamei*. *El Mundo Acuícola*. 2002; 8(1): p. 47-49.
14. Thompson J, Gregory S, Plummer S, Shields R, Rowley A. An in vitro and in vivo assessment of the potential of *Vibrio* spp. as probiotics for the Pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Microbiology*. 2010; 109: p. 1177-87.
15. Sun YZ, Yang HL, Ma RL, Lin WY. Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*. 2010; 29: p. 803-809.
16. Li J, Tan B, Mai K. Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*. 2009; 291: p. 35-40.
17. Ninawe AS, Selvin J. Probiotics in shrimp aquaculture: avenues and challenges. *Critical Reviews in Microbiology*. 2009; 35: p. 43-66.
18. Marcos TD, María IM. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. *Acta Sci Biol Sci*. 2004; 26(2): p. 157-162.
19. Aguilar Ibarra A. Los peces como indicadores de la calidad ecológica de agua. *Revista Digital Universitaria*. 2005; 6(8): p. 14.
20. Jawad LA, Al-Mukhtar MA, Ahemed HK. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilisha* (Family Clupeidae). *Anim. Biodivers. Conserv*. 2004; 27(2): p. 47-52.
21. Bahmani M, Kazemi R, Donskaya P. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiol Biochem*. 2001; 24: p. 135-140.
22. Salazar LR, Blanco Y, Centeno L, Lemus M. Variaciones en los parámetros hematológicos y en la respuesta inmune inespecífica de la cachama negra expuesta a cadmio. *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*.. 2011; 23(1): p. 28-35.
23. Castellanos JA, Bustos MB, Arévalo GH, Mocha PE. Valoración hematológica y química sanguínea del yamú *brycon siebenthalae*, en tres etapas de cultivo.. *Orinoquia*. 2003; 7(1): p. 34-41.
24. Daniel EM. *Introducción a la Acuicultura*; Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 2004.
25. Fernanda J, Vazquez. , Laura S, Greco. L. Diferenciación sexual en la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Biología Tropical*. 2007; 55(1): p. 33-38.
26. Sandra C, Celina L, Arturo R, Marcos SH, José T, Méndez–Montiel.. Caracterización morfológica de hemocitos de la hembra de *Dactylopius coccus* Costa (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae). *Agrociencia*. 2008; 42(3): p. 349-355.

27. Murphy N, Austin. C. Phylogenetic relationships of the globally distributed freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae): biogeography, taxonomy, and the convergent evolution of abbreviated larval development. *Zool. Scr.* 2005; 34(2): p. 187-197.
28. Montoya J. Freshwater shrimps of the genus *Macrobrachium* associated with roots of *Eichhornia crassipes* (Water Hyacinth) in the Orinoco Delta (Venezuela). *Caribb. J. Sci.* 2003; 39(1): p. 155-159.
29. Anger K, Lovrich G, Thatje S, Calcagno J. Larval and early juvenile development of *Lithodessantolla* (Molina, 1782) (Decapoda: Anomura: Lithodidae) reared at different temperatures in the laboratory. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2004; 206: p. 217-230.
30. Mezek T, Simcic T, Arts MT, Brancelj A. Effect of fasting on hypogean (*Niphargus stygius*) and epigeal (*Gammarus fossarum*) amphipods: a laboratory study. *Aquat. Ecol.* 2010; 44: p. 307-408.
31. March J, Pringle. C. Food web structure and basal resource utilization along a Tropical Island stream continuum, Puerto Rico. *Biotropica.* 2003; 35(1): p. 84-93.
32. Campaña-Torres A, Martínez-Cordova LR, Villarreal-Colmenares H, Civera-Cerecedo R. In vivo dry matter and protein digestibility of three-plant derived and four animal derived feedstuffs and diets for juvenile Australian redclaw, *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture.* 2005; 250: p. 748-754.
33. Campaña-Torres A, Martínez-Cordova LR, Villarreal-Colmenares H, Civera-Cerecedo R. Carbohydrate and lipid digestibility of animal and vegetal ingredients and diets for juvenile Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Aquacult. Nutr.* 2006; 12: p. 103-109.
34. Campaña-Torres A, Martínez-Cordova LR, Villarreal-Colmenares H, Civera-Cerecedo R. Carbohydrate and lipid digestibility of animal and vegetal ingredients and diets for the pre-adult redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). *Aquacult. Res.* 2008; 39: p. 1115-1121.
35. Pavasovic A, Anderson AJ, Mather PB, Richardson NA. Effect of a variety of animal, plant and cell-based feed ingredients on diet digestibility and digestive enzyme activity in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Von Martens 1868). *Aquaculture.* 2007; 272: p. 564-572.
36. Humberto VC, Jose NP. Cultivo de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* "redclaw". Una oportunidad para la diversificación de la industria acuícola. *Industria Acuícola.* 2006; 2(4): p. 6.
37. Crandall KA, Fetzner JW, Lawler SH, Kinnersley M, Austin CM. Relaciones filogenéticas entre los géneros de cangrejos de agua dulce de Australia y Nueva Zelanda (Decapoda: Parastacidae). *Australian Journal of Zoology.* 1999; 47: p. 199-214.
38. Mendoza-Alfaro RE, Rodríguez-Almaraz. GA, Castillo-Alvarado. SA. Riesgo de dispersión y posibles impactos de los acociles australianos del género *Cherax* en México. Universidad Autónoma de Nuevo León, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio), México. 2011;: p. 140.

39. Mullo-Guilindro,; Juan-Carlos,; Mullo-Guilindro,; Carlos, Juan. Análisis comparativo de los halos de inhibición de dos probióticos comerciales en *Vibrio vulnificus*, K y *Vibrio parahaemolyticus*. [master's thesis]. 2010;; p. 58.
40. Julio LA, Walter R, Edwin M. Desarrollo de la acuicultura costa afuera en Ecuador. Revista Internacional de Investigación y Educación (IJRE). 2016; 1(1).
41. FAO. El Estado Mundial De La Pesca Y La Acuicultura. 2006.
42. Jones CM. The Biology and Aquaculture Potential of *Cherax quadricarinatus*. ResearchGate. 2014.
43. Humberto VC, Jose N. Cultivo de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Redclaw). una oportunidad para la diversificación de la industria acuícola. ResearchGate. 2006; 2(4).
44. G. GUM, M. C. Gallo-García , J. L. Zavala-Aguirre , J. T. Ponce-Palafox , H. Rodríguez-González , Góngora-Gómez AM. Manual para la producción comercial de juveniles de langostino azul (*Cherax quadricarinatus*) en condiciones de laboratorio: una experiencia de la Universidad Autónoma de Guadalajara. Groppe Libros, Guadalajara, Jalisco, México. 2010;; p. 65.
45. García-Guerrero M, Hendrickx. M. External description of the embryonic development of the prawn *Macrobrachium americanum* based on the staging method. Crustaceana. 2009; 82: p. 1413-1422.
46. Marcelo GG. Effect of temperature on consumption rate of main yolk components during the embryo development of the prawn *Macrobrachium americanum* (Crustacea: Decapoda : Palaemonidae). J. World. Aquacult. Soc. 2009; 41(1): p. 84-92.
47. Martínez-Córdova L, Gaxiola G, Rosas C, Pascual C, L. A. Principales rutas metabólicas. Utilización de la energía. Tema 1 digestión, absorción y utilización de nutrientes. 2006;; p. 61-62.
48. Gaxiola G, Rosas C, Arena L, Cuzón G. Requerimiento de carbohidratos. En: Rosas, C. Carrillo, O. Wilson, R. Andreatta E. R (eds) Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos en Iberoamérica. México DF. 2006;; p. 143-153.
49. Meade MA, Doeller JE, Kraus DW, Watts SA. Effects of Temperature and Salinity on Weight Gain, Oxygen Consumption Rate, and Growth Efficiency in Juvenile Red-Claw Crayfish *Cherax quadricarinatus*. Journal of the World Aquaculture Society. 2002; 33: p. 188-197.
50. Javier-Moyano L. Bioquímica digestiva en especies acuicultivadas: Aplicaciones en nutrición. Avances en Nutrición Acuícola VIII.VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mazatlán, Sinaloa, 15-17 de Noviembre del 2006. Universidad Autónoma de Nueva León, Monterrey, Nueva León, Mexico. ISBN. 2006; 333(5): p. 694-970.
51. Mamun SM, Focken U, Becker K. Comparison of metabolic rates and feed nutrient digestibility in conventional, genetically improved (GIFT) and genetically male (GMNT) Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Comparative Biochemistry and Physiology. Part A. ; 148: p. 214-222.
52. Richard WH, Gordon AW, Anderson. M. Animal Physiology. Massachusetts, Sinauer Associates. In.; 2004. p. 770.

53. Kari LYH. What is thermal acclimation? *Journal of Thermal Biology*. 2006; 31: p. 332-336.
54. Díaz AC, Sousa LG, Petriella AM. Hepatopancreas structure of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, P.idae) fed different levels of dietary cholesterol. En: E. Escobar Briones and F. Alvarez, eds. *Modern Approaches to the Study of Crustacea.*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA. 2002;; p. 67-73.
55. Johansson M, Keyser P, Sitrunyalucksana K, Söderhäll K. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*. 2000; 191: p. 45-52.
56. Rodríguez J, Cedeño R, Molina C, Otero V, Valenzuela E, Sotomayor MA. Efecto de la calidad de la dieta sobre la respuesta inmune del camarón *Penaeus vannamei*. En: Cruz-Suárez, L.E. Ricque-Merie, D. Tapia-Salazar, M. Olivera-Novoa & R. Civero-Cervecedo (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre 2000. Mérida, Yucatán. México. 2000;; p. 67-72.
57. Fonseca-Moreno , Eduardo , González-Salas , Raúl , Rico-Gutiérrez , René.. Sistema inmune de los camarones. *AquaTIC*. 2013;(38): p. 68-84.
58. Pascual C, Gaxiola G, Rosas C. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Mar. Biol*. 2003; 142(4): p. 735-745.
59. Saoud IP, A. Garza de Yta , Ghanawi. J. A review of nutritional biology and dietary requirements of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868). *Aquacult. Nutr*. 2012; 18(4): p. 349-369.
60. Xia S, Zhao W, Li M, Zhang L, Sun L, Liu S, et al. Efectos de los niveles de proteína en la dieta sobre la actividad de la enzima digestiva de *Apostichopus japonicus* albino y normal (Selenka). *Aquac. Res*. 2018; 49: p. 1302-1309.
61. Mohana K, A.M. Padmanaban , V. Uthayakumara , R. Chandirasekar , T. Muralisankar , Santhanam. P. Effect of dietary *Ganoderma lucidum* polysaccharides on biological and physiological responses of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 2006; 464: p. 42-49.
62. Campa-Córdova AI, Hernández-Saavedra NY, De Philippis R, Ascencio F. Generation of superoxide anion and SOD activity in haemocytes and muscle of American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a response to betaglucan and sulphated polysaccharide. *Fish and Shellfish Immunology*. 2002; 12: p. 353-366..
63. Gómez-Anduro GA, Barillas-Mury CA, Peregrino-Uriarte AB, Gupta L, Gollas-Galván T, J. HL. The cytosolic manganese superoxide dismutase from the shrimp *Litopenaeus vannamei*: Molecular cloning and expression. *Developmental and Comparative Immunology*. 2006; 30: p. 893-900.
64. Adineh H, Jafaryan H, Sahandi J, Alizadeh M. Effect of *Bacillus* spp. Probiotic on growth and feeding performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Bulg. J. Vet. Med*. 2013; 16(1): p. 29-36.

65. Laurent-Verschuere. , Geert-Rombaut. , Patrick-Sorgeloos. , Verstraete W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2000; 4(64): p. 655-671.
66. J. Leonel OS, Jorge OS. The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. *Food Microbiology*. 2006; 23(6): p. 519-25.
67. H. Forouhandeh , S. Zununi-Vahed , M.S. Hejazi , M.R. Nahaei , Dibavar. MA. Isolation an phenotypic characterization of lactobacillus species from various diary products. *Current research in bacteriology*. 2010; 3(2): p. 84-88.
68. Llewellyn MS,BS, Hoseinifar SH, and Derome N. Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries. *Front. Microbiol*. 2014; 5: p. 207.
69. NEWAJ-FYZUL A, AL-HARBI AH, AUSTIN BR. Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*. 2014; 431: p. 1-11.
70. Decamp O, D. J. Moriarty , Lavens. P. Selected bacillus strains as feed additive for aquaculture.. *Feed Technology*. 2006; 1: p. 1-5.
71. Aditya KW, Heinrich-Kaspar , Josie-Lategan M, Lewis-Gibson. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*. 2008; 274(1): p. 1-14.
72. Aditya KW, Heinrich-Kaspar , Josie-Lategan , Lewis FG. Rendimiento de los probióticos de una o varias cepas durante la producción en el criadero de larvas de mejillón Greenshell (TM), *Perna canaliculus*. *Acuicultura*. 2012; 354-355: p. 56-63.
73. José-Luis B, Ignacio-Blas , Imanol RZ, David-Cunningham , Daniel-Vendrell , José-Luis M. The rol of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*. 2006; 114(3-4): p. 173-186.
74. Saeed ZN, Mehran HR, Ghobad AT, Donald LL, Ali-Reza M, Mehdi S. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*. 2006; 252(2-4): p. 516-24.
75. A. S. Ninawe , Joseph S. Probiotics in shrimp aquaculture: avenues and challenges. *Critical Reviews in Microbiology*. 2009; 35(1): p. 43-66.
76. Yafei D, Yue Z, Hongbiao D, Yun W, Xiaoting Z, Jiasong Z. Effect of dietary *Clostridium butyricum* on growth, intestine health status and resistance to ammonia stress in Pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*. 2017; 65: p. 25-33.
77. G. Dalmin , K. Kathiresan , A P. Effect of probiotics on bacterial opulation and health status of shrimp in culture pond ecosystem. *Indian J. Exp. Biol*. 2001; 39(9): p. 939-942.
78. R. Laloo , S. Ramchuran , D. Ramduth , J. Görgens , Gardiner. N. Isolation and selection of *Bacillus* spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish. *Jour. Appl. Microbiol*. 2007; 103(5): p. 1471-1479.
79. Humberto VC, José NP. Cultivo de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Redclaw). Una oportunidad para la diversificación de la industria acuícola. CENTRO DE

INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S. C. PROGRAMA DE ACUACULTURA. 2008;; p. 3.

80. F. VA, M.A. Guzmán , Ochoa. JL. 1993.
81. Rodríguez J. Estado del arte de la investigación científica en inmunología de Penaeidos”. En: Calderón J., F. Magallón, E. Andratta, R. Sánchez (Eds). La investigación científica en Penaeidos de Iberoamérica. San Pedro de Manglaralto. Ecuador. 1996;; p. 37-45.
82. Hauton C LEHSH. The use of the neutral red retention assay to examine the effects of temperature and salinity on haemocytes of the European flat oyster *Ostrea edulis* (L), Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 1998; 119: p. 619–623.
83. Chen H, Mai K, Zhang W, Liufu Z, Xu W, Tan B. Tan, Effects of dietary pyridoxine on immune responses in abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. Fish Shellfish Immunol. 2005; 19(3): p. 241–252.
84. Hagerman L. Haemocyanin concentration of juvenile lobsters (*Homarus gammarus*) in relation to moulting cycle and feeding conditions. Marine Biology. 1983; 17: p. 11-17.
85. Chen , Cheng W, J.H.. Effects of pH, temperature and salinity on immune parameters of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Fish & Shellfish. 2000; 10: p. 387-391.
86. Rodríguez-González Hervey , Alfredo HL, Manuel GU, Ilie SR, Magnolia MM, Humberto V. Effect of protein and lipid levels in diets for female red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* on quality of offspring (juvenile), with emphasis on growth performance, biochemical composition and stress resistance to low oxygen, high ammonia and salinity. Aquaculture Nutrition. 2014; 20(5): p. 557-565.
87. Paglia DA, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J. Lab. Cm. Med. 1967; 70: p. 158-69.
88. STATISTICAL, ANALYSIS, SYSTEM. Versión 9.0. User’s guide. Cary, Estados Unidos; 2004.
89. Orlanda VV, Walter RA, Sorayda ME. Hemocitos y oxihemocianina en hembras de *Cryphiops caementarius* Molina 1782 (Crustacea: Palaemonidae) criadas a diferentes salinidades. Revista AquaTIC. 2014;(40): p. 11-20.
90. Gina-Saptiani , Syafei- Sidik , Fikri- Ardhani , Esti HH. Respuesta del perfil de hemocitos en camarón tigre negro (*Penaeus monodon*) frente a *Vibrio harveyi* inducida por extracto de hojas de *Xylocarpus granatum*. Vet World. 2020; 13(4): p. 751-757.
91. Elizabeth CP, Zanny MT, Walter RA, Carlos AD. Efecto de dietas con alta concentración de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la proliferación de hemocitos en camarones *Cryphiops caementarius* machos. Vet Perú. 2019; 30(3): p. 1057-1067.
92. Z. Xia , M. Zhu , Zhang. Y. Efectos del probiótico *Arthrobacter* sp. CW9 sobre la supervivencia y el estado inmunológico del camarón blanco (*Penaeus vannamei*).. Applied Microbiology. 2013; 58: p. 60-64.

93. González HR. Efecto del nivel de inclusión de proteínas y lípidos en la dieta para reproductoras de langosta de agua dulce *cherax quadricarinatus*, en relación a la calidad del huevo y del juvenil. [master's thesis]. Centro de investigaciones biológicas del norte, S.C. 2001.
94. Maritza L, Soberanes-Yepiz , Yuniel MM, Marcelo U, García-Guerrero , Felipe A, et al. Actividad de la superóxido dismutasa en tejidos de langostinos de río cauque (*Macrobrachium americanum* Bate, 1868) alimentados con diferentes niveles de proteínas y lípidos.. Aquat. Res. 2018; 46(3).

CAPITULO VII

ANEXOS

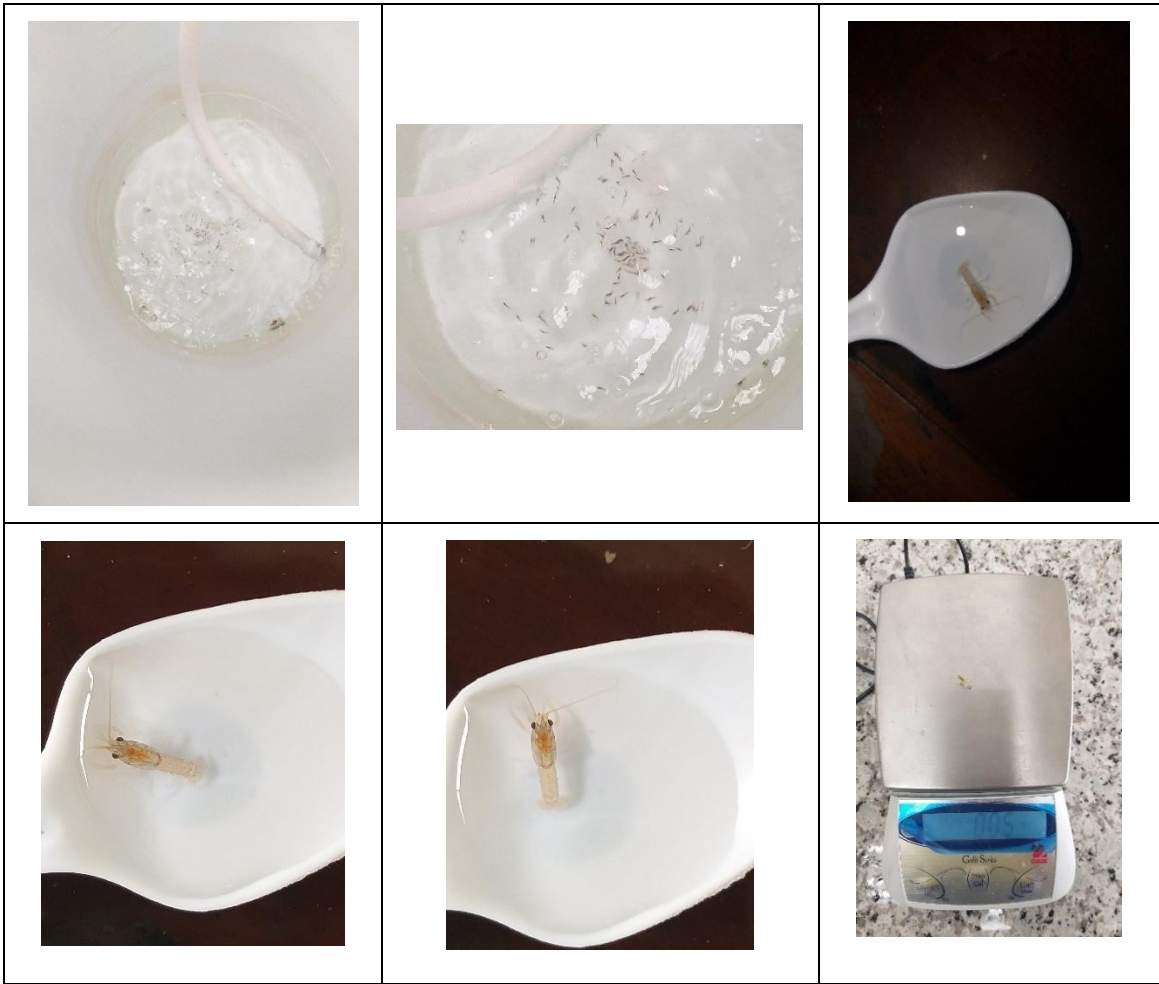
Lugar del experimento y etiquetado de los tanques








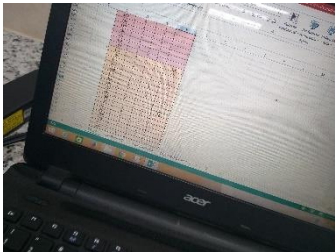
Recepción de las hembras reproductoras (*C. quadricarinatus*)



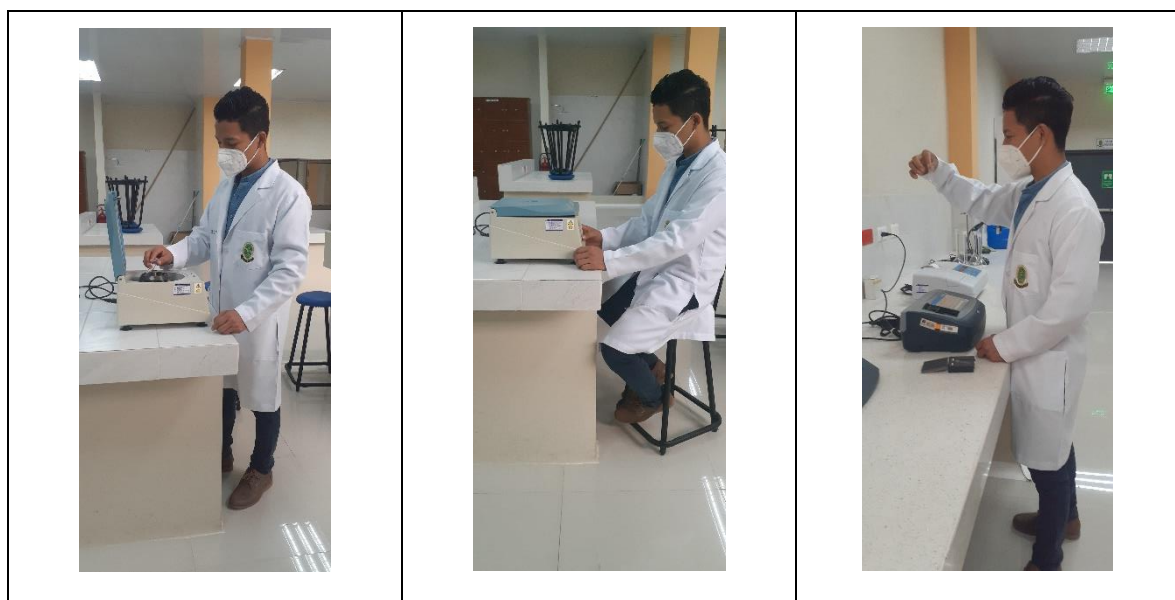
Obtención de juveniles de *Cherax quadricarinatus*



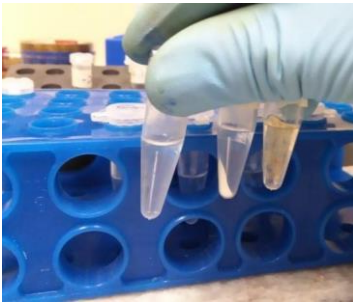


																																																														
<p align="center">Termostatos</p>	<p align="center">Aireadores</p>	<p align="center">Oxímetro</p>																																																												
																																																														
<p align="center">Reactivos de Kit Master Saltwater</p>	<p align="center">Balanza analítica</p>	<p align="center">Melaza</p>																																																												
	 <table border="1" data-bbox="639 1272 997 1599"> <thead> <tr> <th colspan="2">"USO EXCLUSIVO PARA AGUICULTURA"</th> <th colspan="2">25% PREMIUM AGUA DULCE</th> <th colspan="2">25% PREMIUM AGUA DULCE</th> </tr> <tr> <th>ANÁLISIS GARANTIZADO</th> <th>Proteína</th> <th>Grasa</th> <th>Humedad</th> <th>Proteína</th> <th>Grasa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PROTEÍNA CRUDA</td> <td>28.0%</td> <td></td> <td>35.0%</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>GRASA CRUDA</td> <td>3.0%</td> <td></td> <td>8.0%</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	"USO EXCLUSIVO PARA AGUICULTURA"		25% PREMIUM AGUA DULCE		25% PREMIUM AGUA DULCE		ANÁLISIS GARANTIZADO	Proteína	Grasa	Humedad	Proteína	Grasa	PROTEÍNA CRUDA	28.0%		35.0%			GRASA CRUDA	3.0%		8.0%			 <table border="1" data-bbox="1034 1272 1369 1599"> <thead> <tr> <th>ANÁLISIS GARANTIZADO</th> <th>Proteína</th> <th>Grasa</th> <th>Humedad</th> <th>Proteína</th> <th>Grasa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PROTEÍNA CRUDA</td> <td>35.0%</td> <td></td> <td>85.0%</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>GRASA CRUDA</td> <td>5.0%</td> <td></td> <td>3.0%</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>CENIZAS</td> <td></td> <td>2.0%</td> <td>0.5%</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>FIBRA CRUDA</td> <td></td> <td>6.2%</td> <td>6.0%</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>HUMEDAD</td> <td></td> <td>11.2%</td> <td>0.2%</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	ANÁLISIS GARANTIZADO	Proteína	Grasa	Humedad	Proteína	Grasa	PROTEÍNA CRUDA	35.0%		85.0%			GRASA CRUDA	5.0%		3.0%			CENIZAS		2.0%	0.5%			FIBRA CRUDA		6.2%	6.0%			HUMEDAD		11.2%	0.2%		
"USO EXCLUSIVO PARA AGUICULTURA"		25% PREMIUM AGUA DULCE		25% PREMIUM AGUA DULCE																																																										
ANÁLISIS GARANTIZADO	Proteína	Grasa	Humedad	Proteína	Grasa																																																									
PROTEÍNA CRUDA	28.0%		35.0%																																																											
GRASA CRUDA	3.0%		8.0%																																																											
ANÁLISIS GARANTIZADO	Proteína	Grasa	Humedad	Proteína	Grasa																																																									
PROTEÍNA CRUDA	35.0%		85.0%																																																											
GRASA CRUDA	5.0%		3.0%																																																											
CENIZAS		2.0%	0.5%																																																											
FIBRA CRUDA		6.2%	6.0%																																																											
HUMEDAD		11.2%	0.2%																																																											
<p align="center">Balaceado comercial</p>																																																														

		
<p>Aceite de pescado</p>	<p>Probiótico</p>	<p>Cloro</p>
		
<p>Extensiones eléctricas.</p>	<p>Cernidora</p>	<p>Computadora</p>

Análisis de laboratorio



 A photograph of a laboratory bench with several microscopes and a white plastic bottle.	 A photograph of a spectrophotometer with a digital display showing data.	 A photograph of a gloved hand holding a pipette tip over a blue rack containing several test tubes.
<p>Microscopio</p>	<p>Espectrofotómetro</p>	<p>Muestra de hemolinfa</p>