



ANEXO 1

FORMATO PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN  
CON EL FINANCIAMIENTO DEL FEDU

1. Título del proyecto

**Probioticos nativos contra patógenos microbianos de truchas (*Oncorhynchus mykiss*)**

2. Área de Investigación

| Área de investigación | Línea de Investigación | Disciplina OCDE |
|-----------------------|------------------------|-----------------|
| Crianza de truchas    | Sanidad de truchas     |                 |

3. Duración del proyecto (meses)

**12**

4. Tipo de proyecto

|                            |                                  |
|----------------------------|----------------------------------|
| Individual                 | <input checked="" type="radio"/> |
| Multidisciplinario         | <input type="radio"/>            |
| Director de tesis pregrado | <input type="radio"/>            |

4. Datos de los integrantes del proyecto

|                     |                                  |
|---------------------|----------------------------------|
| Apellidos y Nombres | Ccama Sullca Alberto             |
| Escuela Profesional | Medicina Veterinaria y Zootecnia |
| Celular             | 935819938                        |
| Correo Electrónico  | accama@unap.edu.pe               |

I. Título

**Probioticos nativos contra patógenos microbianos de truchas (*Oncorhynchus mykiss*)**

II. Resumen del Proyecto de Tesis (Debe ser suficientemente informativo, presentando -igual que un trabajo científico- una descripción de los principales puntos que se abordarán, objetivos, metodología y resultados que se esperan)

La región Puno es el primer productor de truchas en el Perú, y cada vez más se está propiciando la crianza de esta especie ictiológica, para el que se están importando ovas y alevinos de diferentes partes del mundo, en algunos casos sin considerar las medidas de bioseguridad ni la infecciones que pueden presentar las ovas y alevinos importados, que al presentar enfermedades microbianas requieren del uso de antibióticos para el tratamiento y a veces para la profilaxis. Considerando que se están utilizando los probióticos como alternativa en la prevención y tratamiento de enfermedades microbianas, es que proponemos el presente trabajo con el objetivo de evaluar la efectividad de probioticos nativos contra



patógenos microbianos de truchas, para el que se aislaran e identificarán microorganismos con características probióticas, a partir del contenido del tracto digestivo de larvas y alevinos de truchas, mediante sus características culturales, microscópicas, bioquímicas, probióticas y acción antagonista in vitro frente a patógenos microbianos de truchas. Los resultados nos permitirán tener una alternativa de prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas de truchas y se evite la contaminación del lago Titicaca y formación de bacterias antibioticorresistentes.

**III. Palabras claves (Keywords) (Colocadas en orden de importancia. Máx. palabras: cinco)**

Trucha, Probioticos, patógenos microbianos

**IV. Justificación del proyecto (Describa el problema y su relevancia como objeto de investigación. Es importante una clara definición y delimitación del problema que abordará la investigación, ya que temas cuya definición es difusa o amplísima son difíciles de evaluar y desarrollar)**

La región Puno es el mayor productor de truchas en el Perú, siendo la “trucha arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) es la principal especie dulceacuícola cultivada en el Perú y los principales departamentos productores en el Perú son Puno, Huancavelica y Junín (RNIA, 2017). Dentro de ellos, Puno es la región que presenta las mejores condiciones para el desarrollo de esta actividad por poseer importantes recursos hídricos. Es así que, el cultivo en esta zona se desarrolla fundamentalmente en jaulas flotantes. En los primeros estadios de la acuicultura, como la etapa de alevinaje, es donde se encuentra más susceptible a las enfermedades y presentan alta mortalidad. Por lo tanto, su sistema inmune aún no es competente. Esto sumado a prácticas de manejo inadecuadas, como altas densidades de carga, transferencia al lago con pesos y tallas pequeñas, estrés, etc., favorecen el desarrollo de eventos mórbidos. Principalmente las de etiología bacteriana. *Yersinia ruckeri* es el agente bacteriano que se ha identificado más veces en brotes que generan alta mortalidad de peces en las regiones de Ancash, Junín, Huancavelica y Puno (Sandoval, 2015). Para su control, los productores han usado diversos antimicrobianos, sin previos diagnósticos de laboratorio. Los agentes microbianos que afectan las truchas causan pérdidas económicas a los productores y también pueden ser causantes de infecciones de otras especies ictiológicas que habitan el Lago Titicaca y el uso de antibióticos en el tratamiento o profilaxis de enfermedades infecciosas contaminan la fuente de agua y la formación de bacterias antibioticorresistentes, que pueden llegar a los consumidores y ser un riesgo para la salud pública.

Los probióticos son microorganismos que si son suministrados en cantidades adecuadas son benéficos y que se encuentran en todos los organismos vivos, como parte de su microbiota y que cumplen diferentes funciones, siendo uno de ellos producir sustancias antimicrobianas, actuar por competencia y estimulando el sistema inmunológico contra agentes patógenos y que se utilizan en diferentes especies animales y humanos.

Por los argumentos esgrimidos es que nos hemos propuesto el objetivo de evaluar la efectividad de probióticos nativos contra agentes patógenos microbianos de truchas, que permitirán proponer una alternativa para el control de agentes patógenos de truchas.

**V. Antecedentes del proyecto (Incluya el estado actual del conocimiento en el ámbito nacional e internacional. La revisión bibliográfica debe incluir en lo posible**



artículos científicos actuales, para evidenciar el conocimiento existente y el aporte de la Tesis propuesta. Esto es importante para el futuro artículo que resultará como producto de este trabajo)

**Trucha arco iris** La trucha es una especie típica de aguas continentales, que vive en ambientes lóticos y lénticos, originaria de la vertiente del Océano Pacífico en Norteamérica (Huet, 1973). Se ha introducido en 1874 a las aguas en todos los continentes; salvo en la Antártida, con fines de pesca recreativa y de acuicultura (FAO, 2017). La trucha es adaptable a los ambientes confinados, soporta altas densidades de carga, es un pez domesticado, resistente al manejo y se reproduce en cautiverio (FONDEPES 2004), en el Perú, la trucha fue la primera especie en el desarrollo de la acuicultura peruana, es así que en 1939 se importaron 50 000 ovas embrionadas procedentes de los Estados Unidos (Godoy, 2003 citado en Fernández, 2011).

**Producción nacional.** En el Perú, la producción de “trucha arco iris” ha ido en aumento en los últimos años. Registrando 3 111 t en el año 2003 y mayor a 52 000 t en el 2016. Asimismo, los principales departamentos productores del país son: Puno (43 290.02 t), seguido por Huancavelica (3 704.05 t) y Junín (2 262.96 t), dichos valores son los registrados en el año 2016 (RNIA, 2017). En la región Puno posee un enorme potencial de espejos de agua (354 lagunas, 316 ríos, 7 represas y 1 lago); De éstos, el Lago Titicaca es el más importante para el desarrollo de la acuicultura (AQUAHOY 2011). Principalmente el cultivo de “trucha arco iris” en jaulas flotantes, de amplia difusión y aceptación.

**Enfermedades en truchas**

**Renibacteriosis**

La Enfermedad Bacteriana del Riñón (BKD) es una infección usualmente de carácter granulomatoso crónico que comúnmente provoca una elevada mortalidad en salmónidos, sin embargo, se producen brotes, especialmente a temperaturas moderadas (13-18 °C). Afecta a salmónidos silvestre y de cultivo, tanto en agua dulce como en ambiente marino. La enfermedad ocurre con mayor frecuencia en el riñón por su profunda vascularización y capacidad de filtrado, pudiendo llegar a crear un grave impacto económico (Roberts, 1981; Smith et al., 2001; Ferguson, 2006).

**Yersinia ruckeri**

Etiología *Yersinia ruckeri* pertenece a la familia Enterobacteriaceae (Tobback, 2009) siendo un bacilo Gram negativo corto, entre 1.5-2.0 um por 0,5 um (Buller, 2014). Así mismo, es conocido como el agente causal de la enfermedad entérica de la boca roja, que afecta a salmónidos en todo el mundo (Kumar et al., 2015), y fue aislada de “trucha arco iris” en 1952, en el valle Hagerman, Idaho - Estados Unidos (Ross et al., 1966). Desde allí, se extendió a poblaciones salvajes de peces, de agua dulce en Europa, África, Norteamérica, Sudamérica, Asia y Australia (Tobback, 2009). Las cepas de *Y. ruckeri* se han clasificado sobre la base de serotipos, biotipos y proteínas de la membrana externa (Kumar et al., 2015). Por tanto, se han dividido en 4 serotipos con diferentes subgrupos; serotipo O1 (serovar I y III), serotipo O2 (serovar II), serotipo O3 (serovar V) y serotipo 4 (serovar VI); Asimismo, existen 2 biotipos, biotipo I (móvil) y el biotipo II (inmóvil) (Walter, 2012). En nuestro país, se han identificado ambos biotipos en los departamentos de Junín, Huancavelica y Ancash (Flores, 2013). En el Perú, la yersiniosis representa un problema principal en los departamentos de Puno y Junín; zonas con mayor producción de truchas (Sandoval, 2015), consecuentemente se ha aislado y producido brotes de enfermedad en Chachapoyas, Huaraz, Huancavelica y Cajamarca produciendo rangos de mortalidad que oscilan entre 40 y 80 % (Sandoval, 2015). Adicionalmente, (Mamani, 2016) reporta el aislamiento de *Y. ruckeri* en el distrito de Pomata - Puno, con una frecuencia de 2.3%.

**Probióticos** Es una de las alternativas que puede disminuir la dependencia de la industria acuícola hacia los antibióticos (Berdasco, 2016; Zorriehzahra et al., 2016). Puesto que, el suministro de una dieta enriquecida con microorganismos probióticos proporciona una mejora del sistema inmune, la asimilación de nutrientes y el desarrollo normal del pez,



evitando así una infección por patógenos en situaciones de estrés, muy comunes al manipular peces en condiciones de cautividad (Walter, 2012; Berdasco, 2016).

**Producción de compuestos antagónicos:** Los probióticos producen una variedad de compuestos químicos de amplio espectro (Bidhan et al., 2013). Por ello estos incluyen la producción de antibióticos, bacteriocinas, sideróforos, lisozimas, proteasas, peróxido de hidrógeno, alteración del pH por la producción de ácidos orgánicos (Sihag y Sharma, 2012; Bidhan et al., 2013). De esta forma, constituyen una barrera contra los patógenos oportunistas (Strom-Bestor y Wiklund, 2011; Sihag y Sharma, 2012)

**Competencia por químicos o energía disponible** Dentro del intestino, microorganismos patógenos como benéficos coexisten en el mismo ecosistema y, utilizan los mismos nutrientes (Sihag y Sharma, 2012, Sommer y Backhed, 2013). Este ecosistema microbiano en ambientes acuícolas es generalmente dominado por heterótrofos, compitiendo por sustancias orgánicas; como fuente de carbono y energía (Sihag y Sharma, 2012).

**Competencia por hierro** Todos los microorganismos requieren hierro para el crecimiento (Bidhan et al., 2013). Sin embargo, los sideróforos son agentes quelantes específicos de ión férrico de bajo peso molecular, los cuales pueden disolver hierro precipitado y hacerlo disponible para el crecimiento microbiano (Bidhan et al., 2013). Los patógenos bacterianos “exitosos” son capaces de competir eficazmente por el hierro en ambientes altamente estresados de hierro de los tejidos y fluidos corporales del huésped (Sihag y Sharma, 2012). Además, las bacterias benéficas que producen sideróforos pueden ser usadas como probióticos para competir con otras patógenas, cuya patogenicidad es debida a la producción de sideróforos (Sihag y Sharma, 2012).

**Competencia por sitios de adhesión** Es otro de los mecanismos para prevenir la adhesión de patógenos al intestino o superficie de los tejidos (Sihag y Sharma, 2012; Pandiyan et al., 2013). Dado que, la habilidad para adherirse a la mucosa entérica y a la pared de la superficie es necesaria para que la bacteria llegue a establecerse en los intestinos de los peces (Pandiyan et al., 2013). Ya que la adhesión puede no ser específica; sino a través de adhesinas y receptores moleculares sobre la superficie (García et al., 2015).

**Aumento de la respuesta inmune** Los inmunoestimulantes son compuestos químicos que activan el sistema inmune de los animales y proveen más resistencia frente a infecciones, causadas por virus, bacterias, hongos y parásitos (Abasolo, 2015). Sin embargo, las larvas de peces, camarones y otras especies acuícolas tienen sistemas inmunes menos desarrollados que peces adultos, por lo que dependen primariamente de respuestas inmunes no específicas (Sihag y Sharma, 2012; Bidhan et al., 2013). Dado que, la suplementación de bacterias probióticas en el alimento o en alguna fuente de inclusión pueden estimular el componente celular y humoral del sistema inmune en varias especies de peces y moluscos, incluyendo salmónidos y camarones (Bidhan et al., 2013). Por ejemplo, peces tratados con probióticos aumentaron, significativamente, la actividad fagocítica de los macrófagos presentes en el riñón anterior. Además, incrementó la actividad de la lisozima en el suero y moco del intestino (Walter et al., 2012).

**Mejora de calidad de agua** Varios estudios reportan que la adición de *Bacillus* spp mejora la calidad de agua, dado que es un excelente purificador (Sihag y Sharma, 2012; Badinah et al., 2013). Estas bacterias son más eficientes convirtiendo materia orgánica en CO<sub>2</sub>, que las bacterias Gram negativas (Hariati et al., 2011). Por lo que, mantener estas bacterias Gram positivas en la producción de estanques y/o granjas puede minimizar el desarrollo de carbón orgánico y disuelto durante el ciclo de cultivo, promoviendo el incremento de algas fitoplancton, a través del incremento de CO<sub>2</sub> (Sihag y Sharma, 2012).

**Producción de nutrientes para el hospedador** Los probióticos tienen un efecto directo sobre el crecimiento del hospedador al mejorar su nutrición por el suministro de nutrientes, tales como ácidos grasos, vitaminas y aminoácidos esenciales (Muñoz, 2015). Merrifield et al. (2010), demostraron que ejemplares de “trucha arco iris” alimentadas con *B. subtilis* y *B. licheniformis* durante 10 semanas presentaban mejores índices de conversión y crecimiento. Por otro lado, las bifidobacterias son capaces de bajar el pH del intestino y crear un ambiente no habitable para bacterias patógenas, debido a la producción de ácidos grasos de cadena corta (Sihag y Sharma, 2012). Finalmente, Bifidobacterias, *Streptococcus* y *Enterococcus*



producen vitamina K (Sihag y Sharma, 2012).

Clases de probióticos. Las especies usadas comúnmente como probióticos incluyen las del género *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Carnobacterium*, *Eubacterium* y cepas de *Bacillus*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Microbacterium*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Micrococcus*, *Psychrobacter*, *Pediococcus*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Altermonas*, *Tetraselmis*, *Roseobacter*, *Weissella* y *Aspergillus* (Balcázar et al., 2006; Nayak, 2010; Lakshmi et al., 2013; Tuan et al., 2013; Lazado et al., 2015).

Probióticos usados contra bacterias patógenas en “trucha arco iris” La mayoría de los probióticos propuestos para el uso en acuicultura pertenecen a las bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus* y *Carnobacterium*), *Bacillus*, *Pseudomonas* y a los géneros *Vibrio* (Forouhandeh et al., 2010; Newaj et al., 2014). Las bacterias ácido lácticas (BAL) es un grupo de bacilos o cocos Gram positivos (Buller, 2014). Son microorganismos usados generalmente como probióticos, aplicados de forma segura en veterinaria (Rauta et al., 2013). Por otro lado, *Bacillus* spp., son bacterias Gram positivas, formadoras de esporas (Adineh et al., 2013). *Lactobacillus lactis* y *Lactobacillus fermentum* demostraron ser antagonistas de *Y. ruckeri*; dado que redujeron la adhesión del patógeno al moco del pez. Así mismo, encontraron que el 60% de 12 bacterias ácido lácticas mostraron exclusión competitiva contra *Y. ruckeri*. Similarmente, Panigrahi et al. (2007) reportaron el aumento de la inmunidad innata en truchas, alimentadas con tres probiontes liofilizados *Lactococcus rhamnosus*, *Enterococcus faecium* y *Bacillus subtilis*. Asimismo, otros estudios reportan el efecto positivo de varios probióticos (*Lactococcus lactis*, *L. casei*, *Leuconostoc mesenteroides*) sobre la actividad fagocítica del riñón anterior y la actividad del complemento del suero y menor proliferación del patógeno *Aeromonas salmonicida* en el intestino (Balcázar et al., 2007; Balcázar et al., 2009). Diversos estudios reportan que, el uso de *Bacillus* spp., como probiótico; dado que promueven el crecimiento y la eficiencia alimentaria de larvas de trucha (Adineh et al., 2013). Por ejemplo, la administración oral de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformes* protege a la trucha contra infecciones subsecuentes de *Y. ruckeri* (Palíková et al., 2015). Asimismo, Abbass et al., 2010 inyectaron componentes de la pared celular de cepas del probiótico de *Bacillus subtilis* y componentes de la membrana externa, incluyendo LPS de *Aeromonas sobria*; siendo también efectivo para el control de yersiniosis en trucha. Por otro lado, Capkin y Altinok (2009) demostraron que el uso concomitante de *Enterobacter cloacae* y *Bacillus mojavensis* como suplemento alimenticio es beneficioso para la trucha, protegiendo al pez contra la yersiniosis y aumentando la digestibilidad y utilización del alimento. En adición, Ghosh et al. (2002) indicaron que *Bacillus circulans*, *B. pumilus* y *B. cereus* tuvieron un rol importante en la eficiencia alimenticia de peces cultivados. Burbank et al. (2012) encontró que el tratamiento con *Bacillus* sp., redujo la mortalidad de 80% a 0% y, el tratamiento con *Aeromonas sobria* la redujo en 6%; administradas como suplemento en la dieta de peces infectados del patógeno *Y. ruckeri*. Por otro lado, Burbank et al. (2012) identificaron 16 bacterias aisladas del tracto gastrointestinal de la “trucha arco iris” con potencial probiótico, las cuales inhibieron el crecimiento de *Flavobacterium psychrophilum*.

#### VI. Hipótesis del trabajo (Es el aporte proyectado de la investigación en la solución del problema)

Los probióticos nativos tienen una efectividad mayor al 50% frente a patógenos microbianos de truchas.

#### VII. Objetivo general

Determinar la efectividad antimicrobiana frente a patógenos microbianos de truchas

#### VIII. Objetivos específicos



- Aislar e identificar probióticos nativos de truchas
- Aislar e identificar microorganismos patógenos de truchas
- Estimar la efectividad in vitro de los probióticos nativos frente a microorganismos patógenos de truchas.

#### IX. Metodología de investigación

1. Aislamiento e identificación de probióticos nativos de truchas
  - 1.1-Toma de muestras de larvas y alevinos de truchas
    - a. Para la toma de muestras de larvas y alevinos de truchas, se adquirirán recipientes esterilizados en donde se depositarán las larvas y alevinos, utilizando guantes descartables, y transportados al laboratorio de microbiología veterinaria para realizar los cultivos.
  - 1.2-Cultivos de muestras
    - a. Se obtendrán el sistema digestivo de las larvas y alevinos y de ahí sus contenidos, los serán suspendidos en 10 ml de suero fisiológico esterilizado y después de homogenizar se dejará que sedimente y del sobrenadante se inoculará aproximadamente 1 ml en 10 ml de caldo MRS preparado y esterilizado según las indicaciones del medio de cultivo, para luego incubar a 37 °C por 24 a 48 horas.
    - b. De los cultivos que presenten desarrollo, se repicará en agar MRS, sembrados por agotamiento, para luego ser incubado en Jarra de anaerobiosis a 37 °C por 24 a 48 horas.
  - 1.3-Identificación de microorganismos
    - a. Los microorganismos de cultivos en agar MRS serán identificados de acuerdo a sus características coloniales, microscópicas y bioquímicas.
    - b. Los microorganismos que sean identificados como potenciales probióticos, serán evaluados a la resistencia de ácidos biliares, susceptibilidad a antibióticos.
- 2- Aislamiento de microorganismos patógenos causantes enfermedades infecciosas bacterianas de truchas.
  - 2.1- Toma de muestras de enfermedades infecciosas bacterianas de truchas.
    - a. Diagnóstico clínico de casos clínicos  
Se realizará un diagnóstico clínico de casos clínicos de truchas, observando los signos.
    - b. Toma de muestras  
De las truchas diagnosticadas, se tomarán secreciones o excreciones utilizando hisopos esterilizados y depositados en tubos de ensayo con tapón de goma, que contengan caldo de peptona esterilizados como medio de transporte.
    - c. Cultivo de muestras  
Para el aislamiento de los microorganismos patógenos causantes de enfermedades en truchas, se realizarán cultivos en agar sangre a 37 °C por 24 a 48 horas.
    - d. Identificación de microorganismos causantes de enfermedades en truchas.  
De los cultivos en agar sangre, se realizarán las pruebas correspondientes a las características culturales, microscópicas y bioquímicas.
3. Acción antagonista de probióticos frente a agentes patógenos causantes de enfermedades en truchas
  - 3.1- Evaluación in vitro de la acción antagonista de los probióticos



nativos.

a. Se evaluarán enfrentado los probióticos de manera individual y en consorcios a los agentes patógenos causantes de enfermedades en truchas, para el que se prepararan suspensiones de microorganismos probióticos antagonistas a dilución 0.5 Mcfarland, las que se impregnarán 10 ul en discos de 8 mm de diámetro de papel Whatman, que se colocaran sobre cultivos de patógenos sembrados en agar Mueller Hinton a dilución 0.5 Mcfarland.

**X. Referencias (Listar las citas bibliográficas con el estilo adecuado a su especialidad)**

Abbass, A., Sharifuzzaman, S. M., & Austin, B. (2010). Cellular components of probiotics control *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 33, 31–37.

Adineh, H., Jafaryan, H., Sahandi, J., & Alizadeh, M. (2013). Effect of *Bacillus* spp. probiotic on growth and feeding performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 16(1), 29-36.

AQUAHYOY. (2011). Desarrollo de la acuicultura en el Lago Titicaca (Perú). portal de información en acuicultura. Recuperado de <http://www.aquahoy.com/156-uncategorised/14833-desarrollo-de-la-acuicultura-en-el-lago-titicaca-peru>.

Balcázar, J. L., Vendrell, D., Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., & Múzquiz, J. L. (2009). Effect of *Lactococcus lactis* CLFP 100 and *Leuconostoc mesenteroides* CLFP 196 on *Aeromonas salmonicida* Infection in Brown Trout (*Salmo trutta*). *Journal of Molecular Microbiology Biotechnology* 17, 153–157.

Berdasco, H. M. (2016). Aislamiento y caracterización de cepas bacteriana productoras de bacteriocinas de origen marino para su uso en acuicultura (tesis de pregrado). Universidad de Oviedo, Gijón, Asturias.

Bidhan, C., Meena, D. K., Behera, B. K., Pronob, D., Das Mohapatra, P. K., & Sharma, A. P. (2013). Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1-51.

Buller, N. B. (2014). *Bacteria and Fungi from fish and other aquatic animals*. Bentley, Australia: CABI.

FAO. (2017). Programa de información de especies acuáticas. Departamento de Pesca y Acuicultura *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Recuperado de [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus\\_mykiss/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/es).

Ferguson H. 2006. *Systemic Pathology of Fish: A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease*. Second Edition. Scotian Press. London. 368 p.

Fernández, C. (2011). Determinación de *Yersinia ruckeri* y sus características lesionales anatomo - histopatológicas en truchas Arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en etapa



precomercial en una piscigranja de la región Junín (tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

FONDEPES. (2004). Manual de cultivo de “trucha arco iris” en jaulas flotantes. Recuperado de [http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manua\\_trucha\\_jaulas.pdf](http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manua_trucha_jaulas.pdf).

Flores, K. (2013). Determinación de la diversidad fenotípica de *Yersinia ruckeri* en aislados de truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) de cultivo de las regiones de Junín, Ancash y Huancavelica (tesis de pregrado). Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima, Perú

Hariati, A. M., Sudirdjo, Aulanni'am, Soemarno, & Marsoedi (2011). The Effect of Consortia Bacteria on Accumulation Rate of Organic Matter in Tiger Shrimp, *Penaeus Monodon* Culture. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 1(12), 592-596.

Huet, M. (1973). *Tratado de Piscicultura*. Madrid, España: Mundi-Prensa.

Kumar, G, Menanteau-Ledouble, S, Saleh, M., & El-Matbouli, M. (2015). *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. *Veterinary Research*, 46(103), 1-10.

Lakshmi, B., Viswanath, B., & Gopal, S. (2013). Probiotics as antiviral agents in shrimp aquaculture. *Journal of Pathogens*, 1-14.

Mamani, D. (2016). Evidencia de *Piscirickettsia salmonis* y *Yersinia ruckeri* en truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en cultivo de balsa jaula en el lago Titicaca en el distrito de Pomata departamento de Puno (Perú) (tesis de maestría). Universidad de Chile, Santiago, Chile

Merrifield, D. L., Bradley, G., Baker, R. T. M., & Davies, S. J. (2010). Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria postantibiotic treatment. *Aquaculture Nutrition*, 16, 496-503.

Muñoz, E. (2015). Caracterización y evaluación in vitro e in vivo de bacterias lácticas de origen acuático como probióticos para el cultivo del rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.) (tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, España.

Nayak, S. K. (2010). Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41, 1553-1573.

Palíková, M., Navrátil, S., Navrátil L., & Mareš J. (2015). Preventive and prophylactic measures in intensive salmonid fish breeding – A review. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 63(154), 1409-1416.

Panigrahi, A., & Azad, I.S. (2007). Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33, 429-440.

Rauta, P., Dhupal, M., & Nayak B. (2013) Screening and Charaterization of Potential Probiotic Lactic bacteria isolated from vegetable waste and fish intestine. *International Journal of Current Microbiology Applied Sciences*, 2(8), 234-244.

RNIA. (2017). Áreas prioritarias. Estadística y mercados. Producción. Recuperado de [http://rnia.produce.gob.pe/index.php?option=com\\_content&view=article&id=61&Itemid=79](http://rnia.produce.gob.pe/index.php?option=com_content&view=article&id=61&Itemid=79).



Sandoval, N. (2015, Octubre). ¿Cuáles son los principales problemas sanitarios y de crianza en las especies acuícolas de piscigranjas del Perú? Mensual. Recuperado de <http://www.cmvL.pe/wp-content/uploads/2015/11/Revista-CMVL3.pdf>

Sihag, R., & Sharma, P. (2012). Probiotics: The New Ecofriendly Alternative of Disease Control for Sustainable Aquaculture. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 7(2), 72-10.

Strom-Bestor, M., & Wiklund, T. (2011). Inhibitory activity of *Pseudomonas* sp. on *Flavobacterium psychrophilum*, in vitro. *Journal of Fish Diseases*, 34, 255–264.

Tobback, E. (2009). Early pathogenesis of *Yersinia ruckeri* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) (tesis doctoral). Ghent University, Ghent, Belgium.

Tuan, T.N, Duc, P. M., & Hatai, K. (2013). Overview of the use of probiotics in aquaculture. *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*, 3(3), 89-97.

Walter, C. (2012). Molecular studies on the fish pathogen *Yersinia ruckeri* (tesis doctoral). Heriot Watt University, Edinburgh, Scotland.

Zorriehzahra, M., Delshad, S., Adel, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K., & Lazado, C. (2016). Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Veterinary Quarterly*. 1-15.

**XI. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto (Señalar el posible uso de los resultados y la contribución de los mismos)**

Será una alternativa al uso de antibióticos y evitará la contaminación con antibióticos y aparición de bacterias antibiótico resistentes.

**XII. Impactos esperados**

**i. Impactos en Ciencia y Tecnología**

Producción de probióticos como alternativa al uso de antibióticos

**ii. Impactos económicos**

Evitará el rechazo de carnes de trucha por contener residuos de antibióticos y mejorará la producción y comercialización de truchas

**iii. Impactos sociales**

Mejorará la crianza de truchas, evitando pérdidas por enfermedades y residuos de antibióticos.

**iv. Impactos ambientales**

No habrá contaminación del agua y carnes de truchas con antibióticos



**XIII. Recursos necesarios (Infraestructura, equipos y principales tecnologías en uso relacionadas con la temática del proyecto, señale medios y recursos para realizar el proyecto)**

Infraestructura, el presente trabajo de investigación se desarrollará en el Centro Experimental de Piscicultura de Chucuito y el Laboratorio de Microbiología Veterinaria UNA Puno.

Muestras biológicas Truchas Larvas, Alevinos.

Equipos:

Autoclave

Cámara de bioseguridad

Jarra de anaerobiosis

Microscopio

Incubadora

Reactivos y materiales

Medios de cultivo Caldo y agar MRS, Mueller Hinton Peptona

Reactivos Bateria de coloración de Gram, Carbohidratos para las pruebas bioquímicas

Material de vidrio: Placas Petry, tubos de ensayo, pipetas, probetas, Erlenmeyer y vasos de precipitados.

**XIV. Localización del proyecto (indicar donde se llevará a cabo el proyecto)**

El proyecto se desarrollará en la piscicultura del CIPBS ubicada en el distrito de Chucuito, provincia de Puno, departamento de Puno (S 15° 53' 49", O 69° 53' 65"), a una altitud de 3931 msnm. Mientras que, el procesamiento de las muestras se realizará en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno.

**XV. Cronograma de actividades**

| Actividad                                             | Trimestres |   |   |   |  |  |  |  |  |  |  |  |
|-------------------------------------------------------|------------|---|---|---|--|--|--|--|--|--|--|--|
|                                                       |            |   |   |   |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Toma de muestras de larvas, alevinos y truchas        | X          |   |   |   |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Aislamiento e identificación de probióticos nativos   | X          | x |   |   |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Aislamiento e identificación de patógenos microbianos |            | X |   |   |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Pruebas in vitro de probióticos frente a patógenos    |            |   | X | X |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Redacción de artículo de investigación                |            |   |   | X |  |  |  |  |  |  |  |  |

**XVI. Presupuesto**

| Descripción       | Unidad de medida | Costo Unitario (S/.) | Cantidad | Costo total (S/.) |
|-------------------|------------------|----------------------|----------|-------------------|
| Medios de cultivo | Unidad           | 350                  | 6        | 2100              |
| Reactivos y otros | Kit              | 150                  | 6        | 900               |
| Materiales        | Kit              | 200                  | 6        | 1200              |
| Imprevistos       |                  |                      |          | 500               |
| <b>Total</b>      |                  |                      |          | <b>4700</b>       |

