

Uso de probióticos para prevenir problemas bacterianos durante la larvicultura del camarón

Jenny Rodríguez, Lourdes Cobo, Cristobal Domínguez, Rosa Malavé, María Panchana

Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), San Pedro de Manglaralto - Ecuador

jrodrigu@cenaim.espol.edu.ec

Introducción

Bacterias patógenas, tales como *Vibrio harveyi* y *Vibrio parahaemolyticus*, han sido asociadas con mortalidades durante la larvicultura y el engorde de camarón. El uso de probióticos y/o β -glucanos se encuentra entre las estrategias comúnmente empleadas para mitigar ese efecto o robustecer el sistema inmune del camarón. Los probióticos constituyen un suplemento microbiano vivo que tiene un efecto beneficioso sobre el hospedero, modificando la comunidad microbiana de su ambiente, asegurando el aprovechamiento del alimento o mejorando su valor nutricional, incrementando la respuesta inmune o mejorando la calidad del medio de cultivo.

Además, se demostró que la manipulación de la microbiota endógena puede afectar los mecanismos de regulación inmune y el desarrollo de la mucosa gástrica, siendo por lo tanto de vital importancia considerar las interacciones de los probióticos con las mucosas del hospedero. Lo más adecuado es utilizar microorganismos aislados del propio hospedero o del ambiente de cultivo.

Muchos problemas en la larvicultura del camarón están asociados a las artemias. Estas son consideradas vectores de bacterias, algunas de ellas potencialmente patógenas. Los quistes de artemia están cargados de bacte-

rias y muchas de ellas son eliminadas durante el proceso de decapsulación. Sin embargo, los nutrientes liberados durante la eclosión de los nauplios de artemia promueven el crecimiento de bacterias presentes en el medio de cultivo (Fig. 1).

Un estudio publicado recientemente demostró que vibrios potencialmente patógenos pueden crecer durante la eclosión y los desinfectantes, como el agua oxigenada, producen resultados muy variables y no garantizan la limpieza total de las artemias. De tal modo que aplicar probióticos a los cultivos de rotíferos y artemias cumpliría la doble función de limitar el crecimiento de bacterias potencialmente patógenas y promover la salud del hospedero.

Previamente hemos reportado el

aislamiento y evaluación de tres bacterias probióticas. La cepa "ili" de *Vibrio alginolyticus* fue aislada a partir de postlarvas saludables y se demostró que controla de forma eficaz el síndrome de bolitas y el síndrome de la zoea. Tendría además un efecto sobre la maduración del sistema inmune del camarón, ya que su uso durante la larvicultura (desde Nauplio 5 hasta Postlarva 4) incrementa de manera significativa la supervivencia del camarón en piscinas de engorde (Tabla 1).

De la misma manera, las cepas P62 de *Vibrio hepatarius* y P64 de *Bacillus* sp. fueron aisladas del tracto digestivo de camarones silvestres saludables. Su uso en juveniles de camarón tiene un efecto inmunoestimulante, incrementa su tasa de crecimiento, interactúa con la flora endógena del camarón desplazándola y evitando la colonización de *V. harveyi* e incrementa la supervivencia en piscinas de engorde.

En este artículo describimos un estudio en el que se evaluó el uso de los probióticos ili, P62 y P64 en larvas de camarón (a partir de Postlarvas 4) y en artemias durante la eclosión.

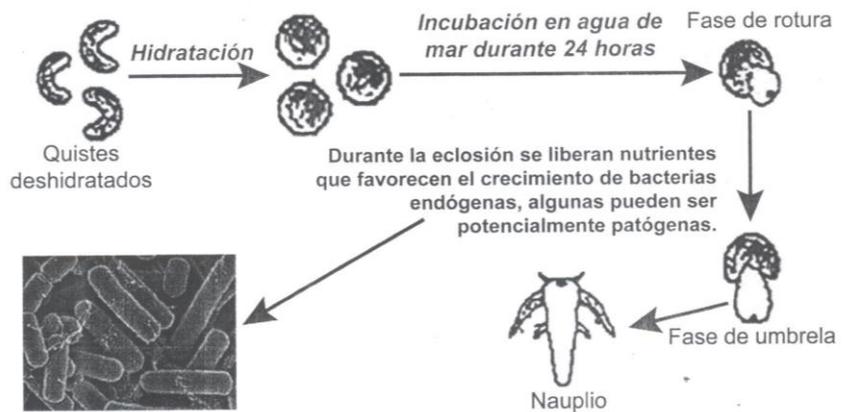


Figura 1: Proceso de eclosión de nauplios de artemia.

Tabla 1: Resultados de producción en piscinas experimentales sembradas con larvas de camarón *P. vannamei* cultivadas con la cepa probiótica ili (desde Nauplio 5 hasta Postlarva 4).

Tratamiento	Densidad a la cosecha (#/m ²)	Tasa de supervivencia (%)	Rendimiento (libras/hectárea)	Peso final (gramos)	Factor de conversión alimenticia
Control	4.9 ± 1.3	60.8 ± 16.2	10.1 ± 1.4	10.1 ± 1.4	1.7 ± 0.3
ili (N5 - PL4)	6.5 ± 0.8	80.8 ± 9.8	10.7 ± 1.3	10.7 ± 1.3	1.1 ± 0.0

Tabla 2: Crecimiento competitivo durante la eclosión de nauplios de *Artemia* entre la cepa P62 de *V. hepatarius* (a tres concentraciones) y la flora endógena (FE), comprobado utilizando tres medios de cultivo (agar marino, TCBS y GSP).

Tratamiento	Agar marino		TCBS		GSP	
	FE	P62	FE	P62	<i>Aeromonas</i>	<i>Pseudomonas</i>
Control	1.18 10 ⁸ ± 1.37 10 ⁷	0.00 ± 0.00	8.94 10 ⁶ ± 6.73 10 ⁶	0.00 ± 0.00	2.58 10 ⁷ ± 2.06 10 ⁷	7.07 10 ³
P62 (10 ⁶)	6.72 10 ⁷ ± 7.47 10 ⁷	2.67 10 ⁷ ± 2.22 10 ⁷	1.13 10 ⁶ ± 9.69 10 ⁵	3.20 10 ⁶ ± 1.62 10 ⁶	2.30 10 ⁶ ± 7.07 10 ⁴	0.00 ± 0.00
P62 (10 ⁷)	1.11 10 ⁷ ± 1.56 10 ⁶	1.70 10 ⁸ ± 9.84 10 ⁷	4.00 10 ⁵ ± 5.66 10 ⁵	1.07 10 ⁷ ± 1.15 10 ⁷	1.22 10 ⁶ ± 1.70 10 ⁵	0.00 ± 0.00
P62 (10 ⁸)	0.00 ± 0.00	1.02 10 ⁹ ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.06 10 ⁸ ± 9.70 10 ⁷	3.42 10 ⁴ ± 1.81 10 ⁴	0.00 ± 0.00

Efecto de los probióticos sobre la carga bacteriana de las artemias

En este primer ensayo se aplicó los probióticos ili, P64 y P62 durante la eclosión de nauplios de artemia. Los probióticos fueron aplicados en tres concentraciones (10⁶, 10⁷ y 10⁸ UFC/mL). La cepa bacteriana más eficaz fue P62, quien desplazó a la flora endógena de las artemias e inhibió completamente el crecimiento de otros vibrios, pseudomonas y, en menor grado, aeromonas (Tabla 2).

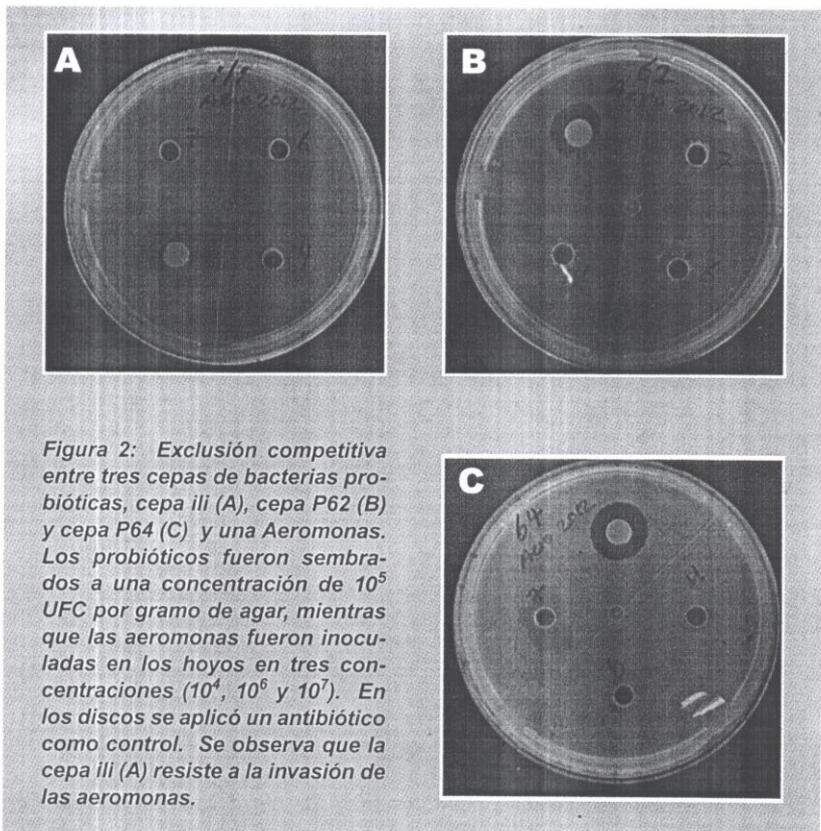
Exclusión competitiva *in vitro* entre ili, P62 y P64 y cuatro bacterias aisladas de tanques con mortalidad

El segundo ensayo fue de exclusión competitiva (*in vitro*), donde se evaluó las tres cepas probióticas (ili, P62 y P64) contra cuatro bacterias aisladas de tanques de larvicultura con mortalidad. Los halos de inhibición de mayor tamaño se consiguieron utilizando los probióticos en una concentración de 10⁷ UFC/g. Los mejores resultados de exclusión se observaron con la cepa probiótica P62, registrándose a las 36 horas la presencia de halos de inhibición contra las cuatro bacterias patógenas ensayadas. La cepa P64 no fue efectiva contra *Pseudomonas* y la cepa ili no mostró actividad contra *Aeromo-*

nas.

El ensayo se realizó también en sentido contrario, sembrando los probióticos en el agar a una concentración de 10⁵ UFC/g y evaluando su capacidad de resistir a la invasión de las

posibles bacterias patógenas. Estas últimas fueron ensayadas a concentraciones de 10⁴, 10⁶ y 10⁷. En este caso, la cepa ili mostró mayor predisposición para resistir a la invasión de las posibles bacterias patógenas (Fig. 2).



Probióticos

Tabla 3: Efecto de la aplicación de la cepa esporulada P64 (*Bacillus* sp.) sobre la tasa de supervivencia de postlarvas de *P. vannamei* (desde PL5 hasta PL10).

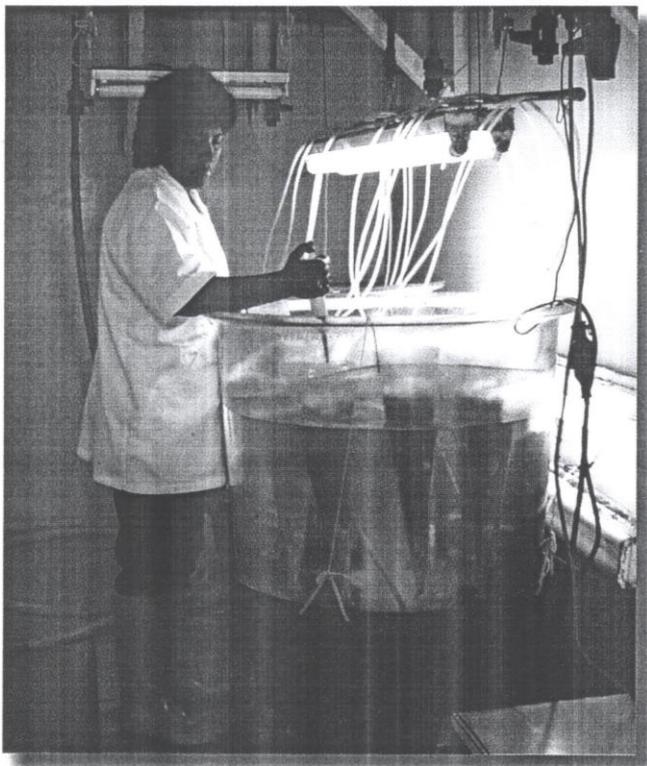
Tratamiento	Tasa de supervivencia (%)
Control	61.0 ± 11.2
P64 esporulada	74.0 ± 9.5

Tabla 4: Comparación de la carga microbiana de larvas cultivadas sin (control) y con la cepa probiótica P64 (*Bacillus* sp.).

Tratamiento	Bacterias totales Agar Marino (UFC/g)	Vibrios TCBS (UFC/g)	GSP (UFC/g)
Control	1.85 10 ⁷	1.2 10 ⁵	1.1 10 ⁵
P64 esporulada	2.9 10 ⁶ (P64)	3.1 10 ⁵	3.2 10 ⁵

Tabla 5: Comparación de la tasa de supervivencia de larvas de camarón *P. vannamei* cultivadas sin (control) y con una mezcla de dos cepas probióticas (P62 *V. hepatarius* y P64 *Bacillus* sp.).

Tratamiento	Primer ensayo Tasa de supervivencia	Segundo ensayo Tasa de supervivencia
Control	63%	82%
P62 + P64	80%	94%



Set experimental donde se llevó a cabo parte de los bioensayos presentados en este artículo.

Efecto de los probióticos P62 y P64 sobre la supervivencia de larvas de camarón

Larvas (PL5) del camarón blanco del Pacífico, *Penaeus vannamei* fueron cedidas por BIOGEMAR y sembradas en 10 conos de un litro a razón de 100 larvas por cono. Los conos fueron asignados aleatoriamente a los tratamientos, cinco conos para el control y cinco para un tratamiento con aplicación de cepas probióticas. El tratamiento consistió en la aplicación de las esporas de la cepa P64 a una concentración final en el agua de 10⁴. Después de cinco días de cultivo (PL10), se cosechó las larvas y se evaluó su tasa de supervivencia. Además, se realizó análisis microbiológicos.

La presencia del probiótico P64 incrementó significativamente ($p=0.04$) la supervivencia de las larvas (Tabla 3). Además, se observó una menor cantidad de bacterias totales en los conos que recibieron probióticos en comparación con los conos control (Tabla 4). El porcentaje de la cepa P64 recuperada fue muy alto (36%) a una concentración de 10⁶, indicando que esta cepa probiótica posee una gran capacidad de proliferación en el agua de cultivo y una capacidad de desplazamiento de la flora natural (Tabla 4).

En un último experimento, se utilizó una mezcla de dos cepas probióticas (P62 y P64) de manera combinada en tanques de precría de larvas de *P. vannamei* (ocho toneladas de capacidad). En los ensayos realizados, la supervivencia de las larvas tratadas con los probióticos fue mayor en comparación con larvas cultivadas sin la adición de cepas bacterianas beneficiosas (Tabla 5).

Conclusiones

Las cepas probióticas P62 (*Vibrio hepatarius*) y P64 (*Bacillus* sp.) fueron eficaces en controlar la carga bacteriana de las larvas de camarón y nauplios de artemias, resultando en un incremento de la supervivencia de las postlarvas durante la etapa de larvicultura. ■