



Por: Ricardo Cedeño M.S.
Fundador CENAIM-ESPOL

Uso de los probióticos *Vibrio hepatarius* (P62) y *Bacillus* sp. (P64) en el cultivo del camarón *Litopenaeus vannamei*

El brote de enfermedades durante los ciclos de cultivo constituye una de las principales causas de pérdidas económicas en acuicultura.

Las bacterias son un grupo diverso de microorganismos que viven libres, en asociación con partículas o en el sedimento de estanques camaroneeros donde cumplen un rol importante en el reciclaje de nutrientes y la descomposición de la materia orgánica.

La ocurrencia de una enfermedad depende de un cambio en la interacción entre el patógeno (la bacteria), el huésped (el camarón) y el medio ambiente.

Existen reportes de diferentes bacterias oportunistas que han causado grandes pérdidas en la producción de camarón a través de lesiones de tejidos (necrosis), malformación, crecimiento más lento y metamorfosis retardada en estadios larvarios.

Cuando se presentan las enfermedades en el cultivo, los productores tienen a su disposición gran variedad de compuestos antimicrobianos, entre estos, antibióticos, formalina, cloro, etcétera, que podrían emplearse para manejar los problemas.

Lamentablemente muchos de estos compuestos pueden llegar a tener efectos tóxicos o negativos sobre el medio ambiente.

Con el uso de antibióticos aparecen cepas resistentes favorecidas por dosis y tiempos de aplicación. Adicionalmente, la aparición de residuos de antibióticos en el camarón inició una crisis al final del 2002, resultando un mayor control sobre los residuos de antibióticos en las exportaciones hacia Europa y USA. Este hecho genera preocupación en ambientalistas, biólogos y gobiernos sobre el uso de antibióticos y otros compuestos químicos a manera de tratamientos profilácticos.

En acuicultura se ha reportado que la



composición bacteriana en tanques, criaderos o grandes piscinas puede ser cambiada por adición de especies seleccionadas que desplazan a las bacterias normalmente presentes (Verschuere et al., 2000).

La manipulación y control de comunidades bacterianas ha contribuido al mejoramiento tanto de la supervivencia como la salud de los camarones durante la larvicultura y la precría (Moriarty, 1999).

Así, el control de patógenos requiere de nuevas estrategias que sean costo-efectivas y ambientalmente seguras, es aquí donde el uso de bacterias benéficas (probióticos) que desplacen los patógenos (por procesos de competición, inmunostimulación u otros mecanismos) está captando aceptación en la industria animal como una alternativa barata y efectiva para reemplazar a los antibióticos (Moriarty, 1997). Actualmente el uso de estas bacterias probióticas, definidas como "suplementos microbianos vivos que contribuyen a mejorar la salud de los animales" (Verschuere et al., 2000), ha

sido evaluado en acuicultura por varios autores (Gazesoupe, 1999; Gómez-Gil et al., 2000).

Los principales grupos de microorganismos utilizados como probióticos en acuicultura de camarones, cangrejos, ostras y peces han sido obtenidos a partir del aislamiento y selección de cepas de ambientes acuáticos.

Entre estos destacan los géneros *Vibrios*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus* spp. y levaduras (Moriarty, 1990; Gómez-Gil, et al., 2000).

Estudios realizados en CENAIM (Gulliam 2004, Balcázar 2002) permitieron la selección y evaluación de dos aislados probióticos pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Vibrio* (P64-P62).

Varios ensayos demostraron que su uso tenía un efecto inmunostimulante y protector contra enfermedades (Gulliam, 2004).

En el presente trabajo se ha evaluado el uso de dos protocolos de aplicación de estos probióticos en engorde, determinando el efecto de su uso sobre la producción final a la cosecha.

METODOLOGÍA

Larvicultura: Las larvas fueron cultivadas en el CENAIM, siguiendo el protocolo establecido de cultivo hasta poslarva 5 (PL.5). Posteriormente las larvas fueron transferidas a tanques externos donde fueron llevadas hasta llegar al estadio PL. 18, durante este periodo los tanques fueron cubiertos con plástico transparente (empleados en invernaderos) para mantener la temperatura entre 29-32°C. Finalmente los animales destinados a las piscinas con tratamiento recibieron la aplicación diaria de los probióticos a una concentración final en el tanque de 1×10^5 UFC ml⁻¹. En tanto los animales destinados a las piscinas del control solo recibieron la cobertura de plástico para incrementar la temperatura.

Engorde: Las poslarvas fueron sembradas en las piscinas experimentales del CENAIM en estadio PL 18 a una densidad de 16 animales/m². Se utilizaron 12 piscinas (400 m²) ubicadas en la estación (Palmar-Guayas). El experimento constó de tres tratamientos: un tratamiento control (CT) y dos tratamientos con probióticos. El primer tratamiento probiótico con una frecuencia de aplicación diaria del probiótico desde la siembra hasta cosecha (PF-1). El segundo tratamiento probiótico con frecuencia de aplicación diaria desde la quinta semana luego de la siembra hasta la cosecha (PF-2). Todos los tratamientos ensayados tuvieron cuatro réplicas (n = 4). En la figura 1 se presenta un esquema general detallando las diferentes etapas del proceso de cultivo. **Cepas probióticas:** Los probióticos empleados son cepas producidas por CENAIM codificadas como P62 y P64 (Gulliam, 2004). Estas fueron suministradas a los camarones vía alimento, para ello fueron aplicadas como un baño (concentración final 1×10^5 UFC g⁻¹), con un recubrimiento de aceite de pescado fresco para reducir la lixiviación de las bacterias en el agua (dosis 50 ml de aceite por kg de alimento).

Análisis de datos: A cosecha se evaluará la supervivencia (%), factor de conversión alimenticia (FCA), peso promedio (g), densidad final de animales cosechados, libras cosechadas. Para el análisis de los datos se realizará un ANOVA de una sola vía y el test de Scheffé para detectar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos, asumiendo un nivel de confianza del 90%.

Tabla 1: Resultados cosecha para los tratamientos evaluados.

Treatment	Libras/ha**	Peso promedio	Densidad final*	SN*	FCA
PF-1	250.00*	2.73*	11.32*	0.22*	1.50*
PF-2	242.22*	2.65*	8.93*	0.25*	1.00*
CT	152.78**	2.91**	8.25**	0.21**	2.00**

PF-1=Probiótico 1 (P62) y PF-2=Probiótico 2 (P64) por 85 días de cultivo.
 *Los datos de peso promedio, densidad final y SN presentaron diferencias significativas.
 **Análisis de resultados de libras cosechadas por hectárea.

Resultados y discusión

La cosecha de las piscinas fue realizada a los 85 de cultivo. Los resultados son presentados en la tabla 1 y las figuras 2 y 3. Los tratamientos PF-1 y PF-2 permitieron en general obtener una mayor producción con respecto al control. En términos de libras por hectárea se obtuvieron 250 y 800 libras adicionales para los tratamientos PF-2 y PF-1 respectivamente, siendo estas diferencias estadísticamente significativas para el tratamiento PF-1 ($p < 0.10$) comparado con el control. Los valores de peso promedio, densidad de

cosecha (animales/m²) y la supervivencia fueron numéricamente mayores en los tratamientos probióticos (PF-1, PF-2) comparados con el control (CT), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0.10$).

El factor de conversión fue numéricamente más alto en el tratamiento control (2,4) comparado con los tratamientos probióticos PF-1 y PF-2 con 1,5 y 2,0 respectivamente ($p > 0.10$). Este alto valor podría explicarse en parte por la menor supervivencia obtenida en el control, además trabajos realizados previamente en CENAIM (Gulliam et al, 2004, Balcázar, 2002) permitieron observar un incremento de peso en los animales tratados con los probióticos evaluados. Esta ganancia de peso contribuiría entonces a obtener un mejor factor de conversión alimenticia a cosecha.

En lo referente a costos el uso de probióticos con el tratamiento PF-1 implica una inversión adicional aproximada de \$ 140,63 por hectárea y por ciclo, respectivamente, pero a la vez permite obtener un retorno a cosecha de 800 libras por hectárea más que en el control, lo que representa un ingreso adicional neto de \$ 739,37 por hectárea respectivamente (tabla 2).

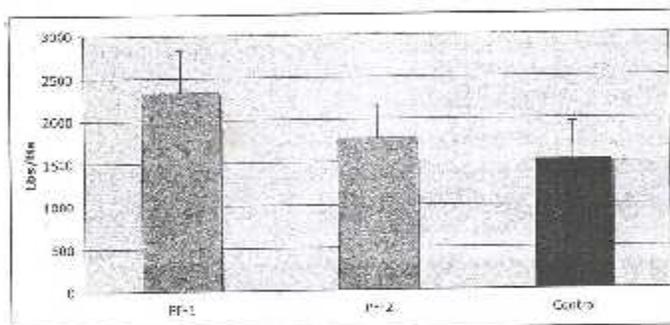


Figura 2: Libras cosechadas camaronero por hectárea. Promedio de 4 réplicas por tratamiento con sus desviaciones estándares. La única diferencia estadísticamente significativa (90% de confianza) se encontró entre el tratamiento PF-1 y el tratamiento Control.

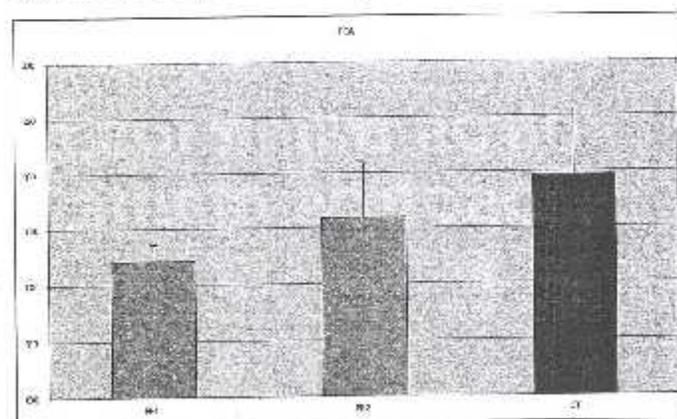


Figura 3: Factor de conversión alimenticia. Promedio de 4 réplicas por tratamiento con sus desviaciones estándares. No presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos.

Costos e ingresos estimados por uso de probióticos

Los costos incrementales e ingresos estimados por el uso de los probióticos durante un ciclo de cultivo de 85 días son presentados en la tabla 2.

Tabla 2: Costos incrementales e ingresos adicionales estimados por uso de probióticos con el tratamiento de aplicación PF-1, calculado por hectárea para un ciclo de cultivo de 85 días.