



María Sotomayor, M. Sc.



## Uso de cepas ácido lácticas como probióticos en sistemas acuícolas. Parte 2 Evaluación *in vitro*

**Introducción.** Las cepas ácido lácticas con mayor actividad antagonista L1, L14, L16, L23, L26, L27, L29, L30, L31, L32, L26141 fueron evaluadas a diferentes temperaturas, salinidad e inmuno-estimulación (Parte I).

### Actividad Fenoloxidasa.

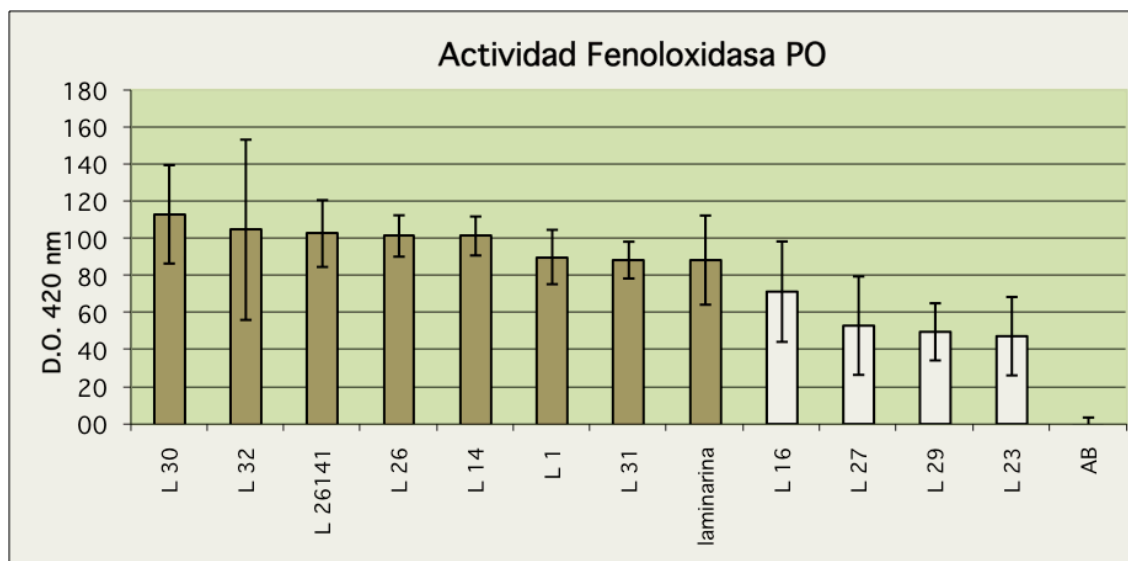
Para determinar las características inmuno-estimulantes, se evaluó la actividad fenoloxidasa (PO) por los hemocitos de camarón, en presencia de bacterias, en este caso se utilizó las paredes bacterianas a una concentración 20 bacterias por reacción (Figura 1). Las cepas L1, L14, L26, L30, L31, L32, L26141, mostraron estimulación igual al control (laminarina), lo que permite que sean

consideradas como potenciales inmuno-estimulantes.

### Crecimiento: salinidad y temperatura.

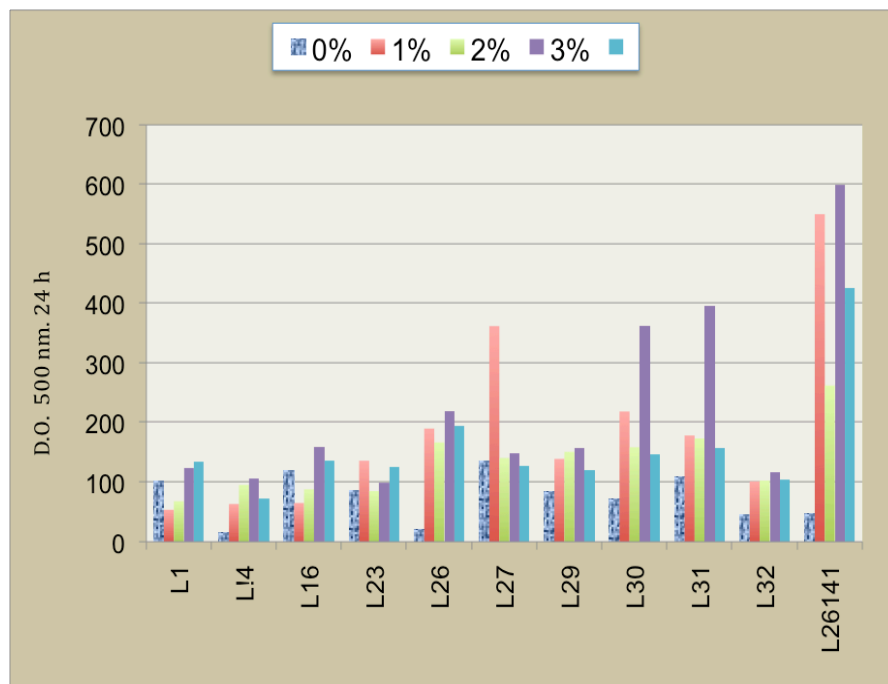
Las cepas se inocularon a diferentes concentraciones de cloruro de sodio (Fig.2), con el objetivo de determinar si eran tolerantes a salinidades superiores a 0% salinidad normal de crecimiento. Las cepas (L1, L14, L16) crecieron a diferentes salinidades, otras se mantuvieron (L26, L29, L32), y cepa (L27) fue sensible al incrementar la salinidad. Mientras que para diferentes temperaturas (inferior a 37°C) la viabilidad de las cepas se mantuvo, excepto para la cepa L16 (Fig. 3).

**Figura 1.** Actividad Fenoloxidasa. Donde: laminarina=estimulante protocolo, AB=actividad base de los hemocitos.

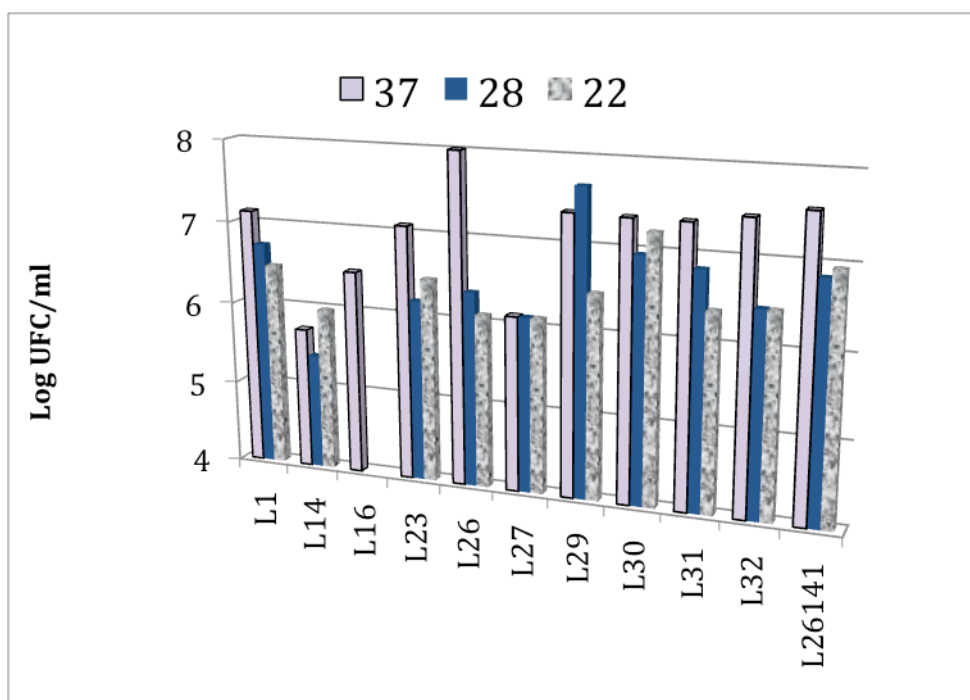




**Figura 2.** Crecimiento a 0%, 1%, 2%,3% cloruro de sodio (24 h de cultivo). Donde el crecimiento óptimo fue a 0% cloruro de sodio.



**Figura 3.** Crecimiento a diferentes temperaturas (37, 28, 22 °C). Donde el crecimiento óptimo fue a 37 °C.





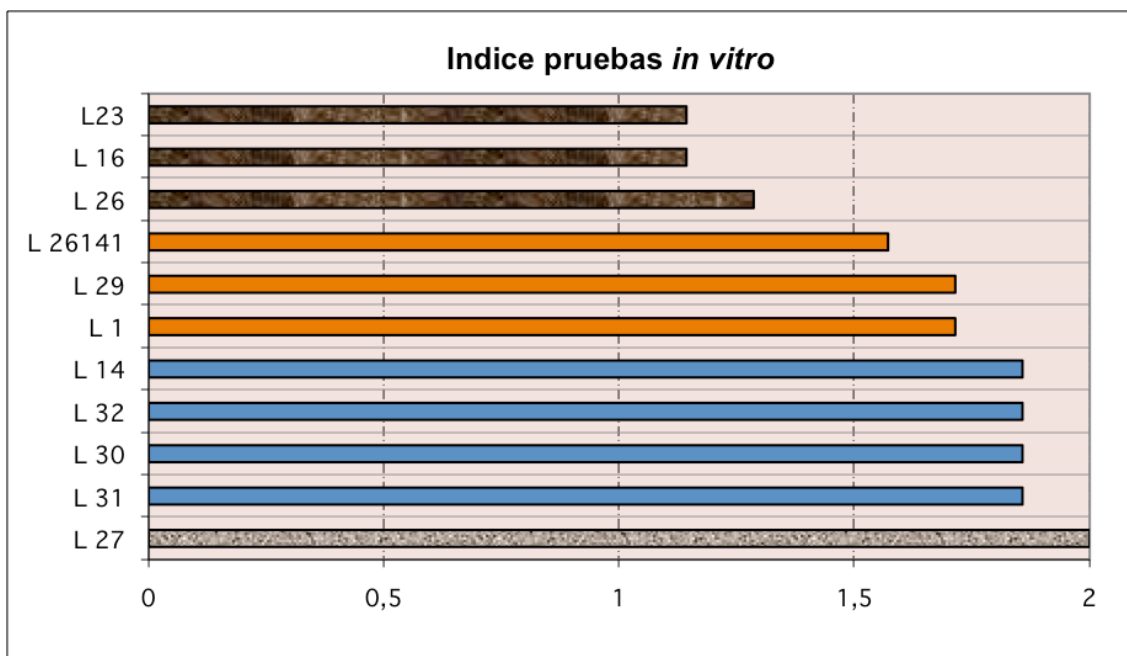
María Sotomayor, M. Sc.

Los resultados de las pruebas *in vitro*, fueron transformados a índices (calificación de cada prueba individual), a fin de tener una valoración global para cada cepa, figura 4. Este índice consideró: actividad antagonista, inmuno-estimulación, actividad enzimática, crecimiento a diferentes salinidades y temperaturas (datos en boletín 1 y 2 parte *in vitro*).

Considerando el valor general de los índices *in vitro* ( $\geq 1,5$ ) las cepas L27, L14, L30, L31, L32, L1, L29, L26141 podrían ser buenas candidatas como “probióticos”.

Estos resultados *in vitro*, son considerados por nuestro laboratorio, como el primer paso, en el rango de calificaciones para la obtención de cepas probióticas de CENAIM.

El siguiente paso, es la correspondiente a la evaluación *in vivo*, a nivel experimental donde se determinará supervivencia, estado de salud de animales expuestos a las cepas de estudio, y protección al patógeno *V. parahaemolyticus*. Estos datos serán presentados en un próximo boletín (evaluación *in vivo*)



**Figura 2.** Índice evaluación *in vitro*. Donde las cepas L16, L23 y L26 presentaron menor índice, y las cepas L1, L14, L27, L29, L30, L31, L32 los mayores.