



Por Ricardo Cedeno, M.Sc.
Investigador Microbiología



“Análisis microbiológico y caracterización de poblaciones bacterianas en sistemas de engorde de camarón durante un ciclo de cultivo”.

INTRODUCCION

En la literatura científica existen varios trabajos de caracterización de la microbiota bacteriana en sistemas de cultivo de Penaeidos, pero muy poca información con respecto a la especie *Litopenaeus vannamei* en sistemas de engorde locales. El género *Vibrio* y algunas especies de *Photobacterium* (bacterias Gram-), son citadas como las causantes de las enfermedades más serias en cultivo de camarón (Sung et al., 2003). En los últimos años se ha propuesto metodologías para el control de bacterias patógenas (Gram -) en sistemas de cultivo de camarón que se basan en la manipulación de las poblaciones bacterianas mediante la inclusión de bacterias denominadas “Probióticas” y/o el fomento de aguas verdes (greenwater system) con efluentes de piscinas con cultivo de otras especies, principalmente peces, y entre estos últimos Tilapia (Tendencia et al., 2003). Mayores concentraciones de bacterias Gram + en comparación con Gram - (potencialmente patógenas) han sido reportado en estos últimos sistemas, motivo por el cual se ha propuesto el sistema de aguas verdes como una herramienta para el control de patógenos oportunistas como los *Vibrios* en estanques de camarón. La manipulación bacteriana de los estanques camaroneros requiere como primer paso establecer inicialmente la composición microbiológica (rangos y especies) de los mismos bajo diferentes condiciones e intensidades de cultivo. Con el objeto de establecer esta línea base, el CENAIM realizó un estudio de composición bacteriana (totales y *Vibrios*, Gram + y Gram -) en agua y suelos de varios sistemas de cultivo, y que se reportan parcialmente en el presente boletín.

METODOLOGIA

El estudio se realizó en dos piscinas abiertas de cultivo semi-intensivo (5 y 3.5 Ha) con densidad de siembra de 13 animales/m² y en una piscina con invernadero de cultivo intensivo (0.25 Ha, densidad=80 animales/m²), ubicadas en la zona de Palmar-Península de Santa Elena. La recolección de muestras de agua y suelo se realizó siguiendo

los protocolos establecidos en el Laboratorio de Microbiología de CENAIM.

Las muestras fueron sembradas en medios tradicionales: Agar Marino (AM) para bacterias marinas totales y TCBS específico para vibrios, siguiendo los protocolos estándares para la dilución y siembra. Se determinó el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo o mililitro (suelo y agua, respectivamente). Se utilizó el método de siembra por estrías para obtener los aislados y su preservación fue realizado a -80°C en TSB con Glicerol 20%. Para caracterizar los aislados como Gram + ó Gram - se utilizó el método de Ryuss y como análisis confirmatorio en caso de dudas se empleó la Tinción de Gram (Castro, 1989).

El análisis de datos se lo realizó con un análisis de varianza (ANOVA) para detectar diferencias significativas entre los conteos bacterianos (Agar Marino y TCBS) y los porcentajes de bacterias Gram + o Gram - entre los sistemas estudiados.

RESULTADOS

Conteos Microbiológicos.

Muestras de Agua: Los conteos bacterianos promedios obtenidos en AM y en TCBS para cada uno de los sistemas son presentados en la Tabla 1. Los conteos tanto para AM como para agar TCBS fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre las piscinas semi-intensivas y el sistema intensivo.

Muestras de Suelo: Los conteos bacterianos promedios obtenidos en AM y en TCBS para cada uno de los sistemas son presentados en la Tabla 1. Los conteos microbiológicos obtenidos para vibrios y para bacterias marinas totales en el suelo, no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$).

Caracterización de aislados.

Durante el estudio se obtuvieron 723 aislados de los cuales 521 correspondieron a los sistemas semi-intensivos y 202 aislados al sistema intensivo.



Por Ricardo Cedeno, M.Sc.
Investigador Microbiología



Muestras de Agua: Las cepas aisladas del agua correspondieron en su mayoría a cepas Gram – tanto en los sistemas semi-intensivos 79,1 y 84,6 % como en el sistema intensivo 78,7% (Figura 1). Estos porcentajes como los de bacterias Gram + no fueron significativamente diferentes ($p > 0.05$) entre sistemas.

Muestras de Suelo: Un 54,5% de las cepas bacterianas aisladas en el sistema intensivo a partir del suelo correspondieron a bacterias Gram +, en tanto en el caso de las piscinas semi-intensivas lo predominante fueron bacterias identificadas como Gram - (67,8 y 66%) (Figura 1). Las diferencias entre sistemas semi-intensivos e intensivo fueron significativas ($p < 0.05$) tanto para los porcentajes de bacterias

Gram + como Gram - obtenidas del suelo.

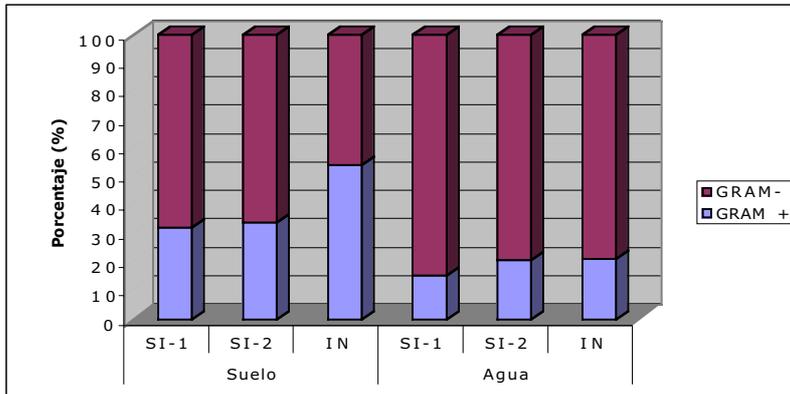
CONCLUSIONES:

-Los niveles de Bacterias marinas totales y vibrios detectados en las muestras de *Agua* fueron significativamente ($p < 0.05$) superiores en el sistema intensivo

-En las muestras de *Suelo* los niveles de Bacterias marinas totales y vibrios fueron mayores en el sistema intensivo pero esta diferencia no fue significativa ($p > 0.05$).

-Las bacterias identificadas como Gram positivas (+) parecen ser las predominantes en el *Suelo* de los sistemas intensivos con invernadero.

-Las bacterias Gram negativas (-) fueron predominantes en el *Agua* de los sistemas intensivo y semi-intensivo.



Figura#1. Porcentaje de Bacterias Gram – y Gram + para las muestras de agua y suelo en cada uno de los sistemas estudiados. SI= Sistema Semi-intensivo, IN= Sistema Intensivo

Tabla #1 Conteos bacterianos promedios para las muestras de agua y suelo (AM y TCBS) para cada uno de los sistemas muestreados. SI= Sistema Semi-intensivo, IN= Sistema Intensivo

	SI-1		SI-2		IN	
	AM	TCBS	AM	TCBS	AM	TCBS
AGUA (UFC/ml)	1,42E+03	3,28E+01	4,77E+03	5,90E+01	8,80E+03	1,08E+02
SUELO (UFC/g)	5,97E+06	3,67E+03	2,92E+07	1,04E+04	6,22E+07	9,16E+03