CENAIM INFORMA
Boletín Informativo No 155 Julio 15 del 2009

María Sotomayor, M. Sc.

Uso de cepas ácido lácticas como probióticos en sistemas acuícolas. Parte 3 Evaluación *in vivo*

Introducción. Posterior al análisis *in vitro*, las cepas con mayor índice fueron evaluadas en post larvas de camarón para determinar; supervivencia, colonización, y estado de salud por histología al ser expuestos a las cepas seleccionadas.

Evaluación en post-larvas de camarón.

Las cepas fueron aplicadas a una concentración 1,00E+04 bacteria/ml, por 7 días. Las PL presentaron una supervivencia al ser expuestas con las cepas L1, L29, L32 (Figura 1), superior a el control (sin bacterias), y pero no así, en la cepa L27. Además, esta cepa, presentó a nivel de histología, daños en los animales.

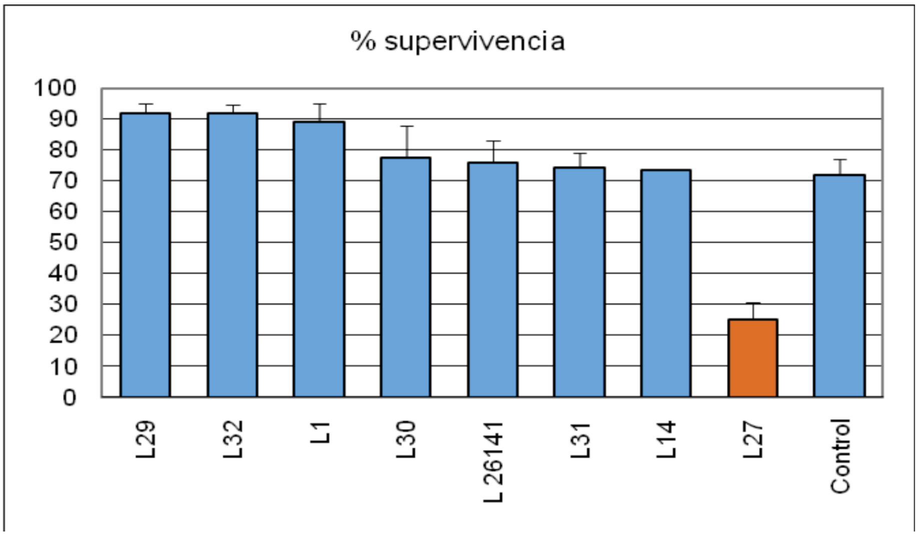
Ensayos en camarones juveniles (laboratorio)

Las cepas se aplicaron mediante alimento (Balcazar, 2002) en camarones juveniles de 1 gramo, los mismos que fueron alimentados por 45 dias. Se determinó supervivencia, peso y estado de salud por histología. Se realizaron cortes histológicos para determinar el estado de salud de los animales, lo mismos que indicaron que las cepas L1, L14, L26141, L32 no presentaban daños histológicos.

Con las cepas L29 y L27 se observaron fuertes daños histológicos en los animales (datos no mostrados). Posteriormente, estos animales fueron infectados via inyección con la cepa patógena *V. parahaemolyticus*. La figura 2, indica el porcentaje de supervivencia de los animales encontrándose que la cepa L14 permitío proteger a los animales al ser infectados con *V. parahaemolyticus*.

En base a estas observaciones, se seleccionó a la cepas L14 por la supervivencia observada a la infección con el patógeno *V. parahaemolyticus*, y la cepa L1 que a pesar de no proteger a los animales (comparado a L14) al ser infectados *in vivo* (Figura 2), no presentaron daños histológicos al ser administradas por el transcurso de 45 dias.

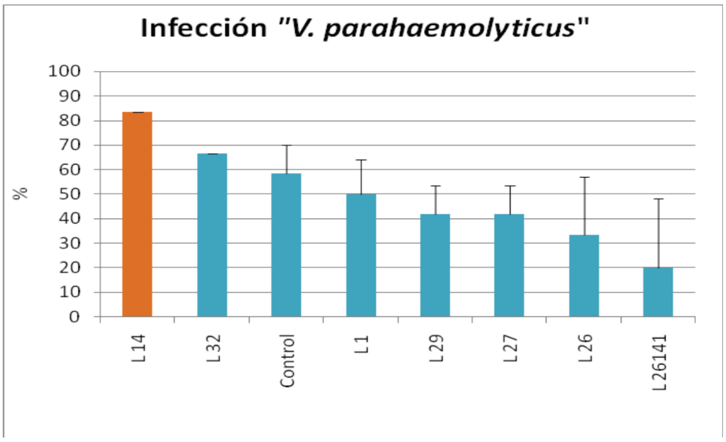
Figura 1. Porcentage de supervivencia PL al ser expuestas con las cepas ácido lácticas. Control (sin aplicación de bacterias)



Fundación CENAIM – ESPOL-Teléfonos:593-4-2269494.Fax:593-4-2269492.ssonnen@cenaim.espol.edu.ec.www.cenaim.espol.edu.ec

María Sotomayor, M. Sc.

Figura 2. Supervivencia de los animales tratados con las cepas ácido lácticas, posterior a la infección con *V. parahaemolyticus* a una concentración 10^4 células/ml.



Ensayos en camarones juveniles (campo).

Las cepas L1, y L14 fueron evaluadas en piscinas de 0.05 ha. La concentración utilizada fue 10^5 UFC/gramo de alimento, con posterior recubrimiento con aceite de pescado, en dos aplicaciones por día. Cada tratamiento tuvo 4 réplicas, la densidad de siembra fue de 8 animales/m^2 (Tabla 1).

Al final del ciclo el tratamiento los animales alimentados con el tratamiento L14 presentaron un peso inferior al obtenido en los otros tratamientos(tabla 1), aunque con mejor supervivencia. Registrándose en el tratamiento L1 mayores Lbs/ha respecto al control y L14 e igual a el control positivo (P62-P64) (Figura 3).

Tratamiento	Peso (g)	FCA	Supervivencia%
CT	11,27 ± 0,87	1,58 ± 0,11	37,04 ± 0,05
L1	10,63 ± 2,09	1,19 ± 0,23	55,52 ± 9,10
L14	9,85 ± 1,20	1,32 ± 0,29	57,43 ± 8,84
P62-P64	11,94 ± 2,24	1,16 ± 0,09	51,11 ± 10,66

Tabla 1. Peso (g), Factor de conversión de alimento (FCA) y supervivencia. Donde: (L1, L14), (P62-P64 = control positivo), CT= sin probióticos.

Conclusiones y Recomendaciones

De este estudio, se enfatiza que la evaluación *in vitro* como metodología de selección para probióticos en acuacultura, debe tener una validación mediante pruebas ***in vivo*** *(exposición prolongada y test de infección)***.**

Observamos en los estudios *in vitro* que las cepas (L27, L29, L30, L31) eran "potenciales probióticos" pero ser administradas en post larvas y juveniles fueron perjudiciales para la salud de los animales determinado por histología y en algunos casos en baja supervivencia (cepa L27). De ahí, que la recomendación de pruebas de validación *in vivo* superior a 45 días de exposición en camarón, para la consideración de cepas bacterianas como "probióticas" para uso en acuacultura, a más a la evaluación *in vitro* *(*antagonismo*)*ampliamente utilizada.

Hemos encontrado que es posible utilizar cepas de bacterias ácido lácticas en acuacultura, donde ciertas cepas (sin generalización al género) pueden inhibir a los patógenos bacterianos de sistemas acuáticos, resistir y permanecer a cambios de salinidad o temperatura, ser inocuos para los animales, favoreciendo el estado de salud de los cultivos. Y la existencia de cepas incapaces de reproducir sus características probióticas en camarón (alto porcentaje de inhibición L27).

Para las cepas L1, y L14, se están realizando las evaluaciones a concentraciones inferiores a la utilizada en este experimento en campo.

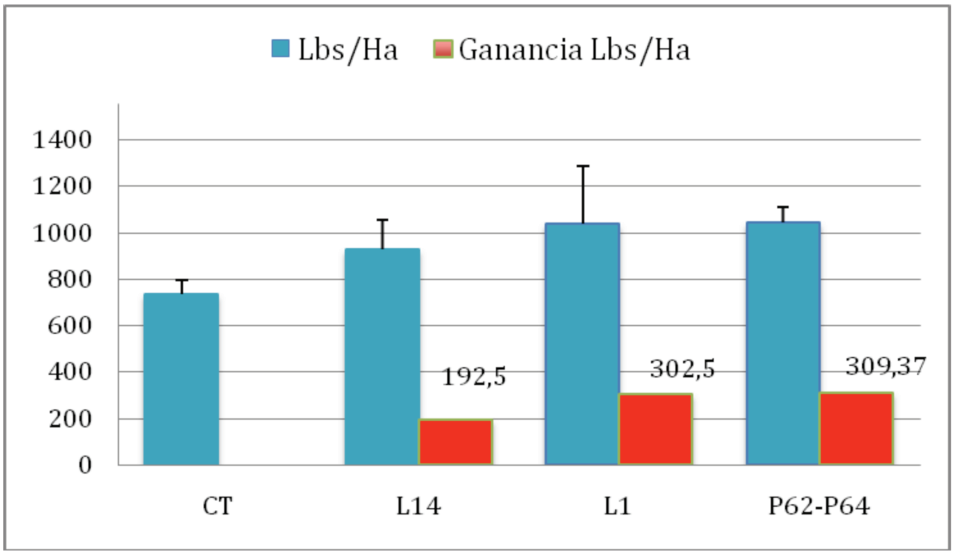


Figura 3. Libras/ha obtenidos en los tratamientos, donde : L1& L14 son bacterias ácido lacticas; P62-P64 son bacterias correspondientes al control positivo; y CT es tratamiento control sin probióticos.