Boletín Informativo No.72
15 de enero del 2003
CENAIM INFORMA

Por Mariuxi Sotomayor, Ac.
Jefe Lab. de Microbiología

Evaluación de mezclas de cepas probióticas en juveniles *Litopenaeus vannamei*

Estudiante: *José Luis Balcázar, Universidad de Machala*

INTRODUCCION

La Fundación CENAIM-ESPOL tiene entre sus líneas de investigación el uso de probióticos desde larvicultura hasta engorde del *L. vannamei.* Disponiendo en estos momentos cuatro cepas probióticas (*V. alginolyticus*, Morales *fide* San Miguel 1996); P62, P63 (*Vibrios sp.*) y P64 (*Bacillus sp.*)(Gullian, 2001), seleccionadas en ensayos de laboratorio, con el principio de exclusión competitiva de patógenos y estimulación de la respuesta inmune (ver boletín "Cenaim informa" # 37 y Mundo Acuícola Vol.8 #1).

Este trabajo tuvo el objetivo de obtener con las cepas una o varias combinaciones aplicables en sistemas de engorde, con capacidad de colonizacón, desplazamiento e inhibición cepas patógenas. Para lo cual se realizaron ensayos de evaluación en laboratorio (*"in vitro"*), y ensayos de infección con bacterias y virus (*"in vivo"*).

METODOLOGIA

Se evaluaron 11 combinaciones in "*vitro*", a diferentes concentraciones de las 4 cepas probióticas, en test de antagonismo. Además las combinaciones se enfrentaron a tres vibrios patógenos E_{22} *(V. harveyi*), S_2 *(V. harveyi),* y P_A (*V. parahemolyticus*), con el objetivo de seleccionar las combinaciones, en que sus cepas participantes no se inhiban, y mantengan sus caracterísiticas probióticas al exponerlas a cepas patógenas en mayor concentración.

Posteriormente, las tres mejores combinaciones *"in vitro"* se administraron a juveniles por alimento (3.6 X 10^7 UFC/ml por gramo de alimento) para observar el efecto en el crecimiento y supervivencia de estas mezclas en los animales. Cada tratamiento tuvo 5 réplicas (50 animales/tanque de 250 L). Se alimentó al 6% de la biomasa en dos dosis y recambio del 50% del agua diario por 45 días.

El estado de salud de los animales se determinó por análisis inmunitarios (NTH, fórmula hemocitaria, actividad antibacteriana y fenoloxidasa), histología y porcentaje de colonización (microbiología de HP), al final del ensayo.

Parte de estos animales se desafiaron con *V. harveyi* y virus WSV (resultados ver próximo boletín).

RESULTADOS

Evaluación "in vivo" de las combinaciones probióticas en juveniles.

Los análisis "*in vitro*" (datos no mostrados), seleccionaron a las combinaciones P62-P64, P63-Ili y P62-P63-Ili, para ser aplicadas en animales.

Los resultados "*in vivo*" indicaron que la aplicación de las cepas en combinaciones, producen mayor capacidad de colonización, que cuando se administran individualmente, siendo la mezcla P62-P64 la de mayor porcentaje de colonización ($p<0.05$) Figura 1.

Los valores de supervivencia fueron significativamente mayores en los animales tratados con las combinaciones probióticas P62(1%)-P63(1.5%)-Ili(1%) y P63(1%)-Ili(1%) con respecto a la mezcla P62(5%)-P64(1%) y el

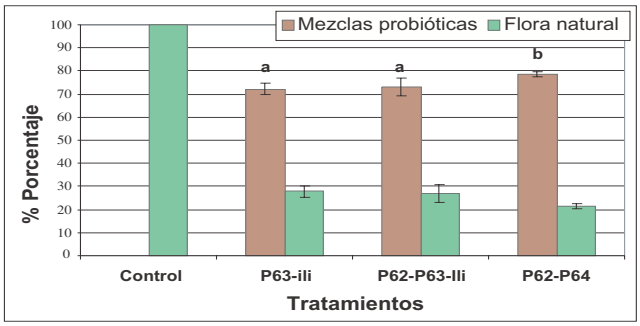

Figura 1. *Porcentajes de colonización de las mezclas P62-P64, P62-P63-Ili y P63-Ili en hepatopáncreas.*

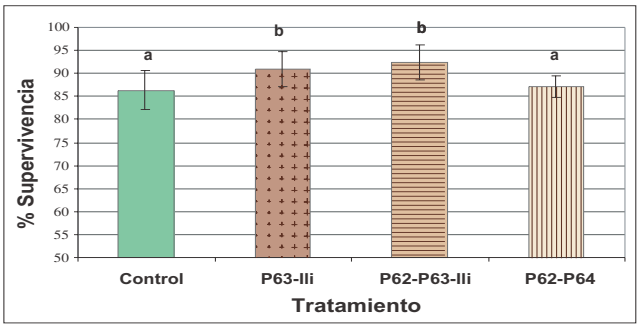

Figura 2. *Porcentaje de animales supervivientes, después de 45 días de aplicación con mezclas probióticas mediante alimento.*

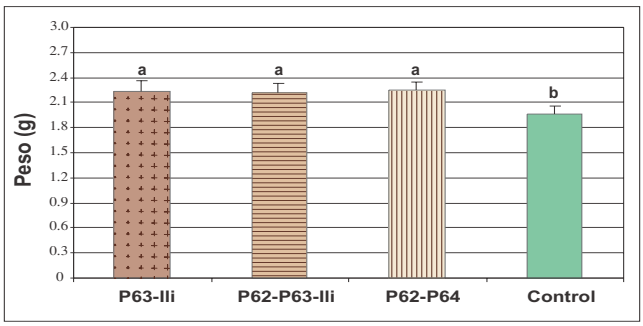

Figura 3. *Peso promedio alcanzado por los juveniles L. vannamei, luego de 45 días de aplicación de las mezclas mediante el alimento.*

control (Fig. 2). Debe considerarse que los análisis histológicos mostraron la presencia de un agente desconocido (no bacteriano), en los tratamientos.

El peso promedio final de los animales con probióticos fue mayor respecto al control no tratado (Fig. 3). Respecto al estado inmunitario, la respuesta fue significativamente mayor en los tratamientos con probióticos, a nivel de actividad antibacteriana.

GLOSARIO

UFC: *Unidades Formadoras de Colonias.*
NHT: *Número total de hemocitos.*
HP: *Hepatopáncreas.*
WSV: *Virus de la mancha blanca.*