

## Probióticos en la acuicultura

José Ángel Ronsón-Paulín\* y C. E. Medina-Reyna\*\*

La acuicultura moderna provee de medios efectivos para la producción intensiva de organismos acuáticos bajo condiciones controladas. Tal industria con inversión y ganancias multimillonarias crece rápidamente (Sorgeloos, 1994); sin embargo, su expansión ha experimentado problemas severos de enfermedades, como los ocurridos en Francia y Noruega con respecto al cultivo de moluscos (Lamberth *et al.* 1999), debido a la carencia de control de la microbiota en los sistemas tempranos de cultivo. Aun cuando ha sido grande el progreso, incluso en la identificación de los requisitos dietarios de los estadios larvales de varias especies en la acuicultura, el conocimiento de la composición y el papel que juega la microflora, en la sanidad y sobrevivencia en los sistemas de cultivo larvario, es aun incierta y poco controlable (Sorgeloos, 1994).

El control de enfermedades o epizootias es la parte inherente de cualquier sistema de producción intensiva de organismos; sin embargo, en el medio acuático la íntima relación existente entre bacterias-hospedero, que eventualmente es afectada por un "normal" establecimiento de microflora no recurrente en membranas mucosas, puede desencadenar epizootias, de ahí que la pertinencia en el uso frecuente de sistemas de producción abiertos sea un desafío a resolver (Hansen y Olafsen, 1999; Ringo y Birkbeck, 1999; Olafsen., 2001).

El uso de antibióticos en ecosistemas acuáticos es precisamente mantener el mínimo de problemas de salud de los organismos; sin embargo, algunos organismos muchas de las veces no pueden responder a estas sustancias, debido a nuevas variantes de la enfermedad en relación a los niveles de producción y manipulación de la industria acuícola.

En acuicultura, el mantenimiento de huevecillos en incubadoras con una microflora que difiere considerablemente de la de condiciones oceánicas, los hace colonizarse lentamente en su superficie mucosa con bacterias, inmediatamente después de la fertilización (Ringo y Birkbeck, 1999; Hansen y Olafsen, 1999). Tal colonización juega un papel muy importante en la viabilidad de huevos fertilizados, ya que la producción de enzimas proteolíticas en la superficie de dichos huevos, por miembros de la epiflora adherente, puede causar serios daños en su desarrollo, afectando además la colonización de otra extensa epiflora benéfica; daños similares suelen presentarse también en larvas. Las larvas de peces y otros organismos, aún con saco vitelino, ingieren bacterias autóctonas del medio ambiente por filtración, lo que las capacita en la producción de antígenos en su aún no desarrollado tracto digestivo, antes de que comience su activa alimentación de microorganismos y micropartículas (Gatesoupe y Lesel, 1998; Hansen y Olafsen, 1999; Ringo y Birkbeck, 1999; Olafsen, 2001).

El establecimiento de microflora bacteriana aeróbica benéfica, inducida en el tubo digestivo de organismos acuáticos (Huys *et al.* 2001), así como en el agua de los sistemas de cultivo, tal vez puede sufrir varias colonizaciones

\*Laboratorio Microbiología. Universidad de Santiago de Compostela.

\*\*Instituto de Industrias. Universidad del Mar.

(semanas, meses) antes de establecerse una población "madura" (Gatesoupe y Lesel, 1998; Hansen y Olafsen, 1999; Skjermo y Vadstein, 1999), y aún después de la primera alimentación. La temprana exposición a altas densidades bacterianas típicas, es probablemente importante para una tolerancia inmunológica, y así establecer una microflora intestinal protectora; es además conocido que puedan servir como suministro exógeno de nutrientes, vitaminas o factores esenciales en la sobrevivencia y crecimiento de fases tempranas del desarrollo larvario.

Esto puede favorecer en las larvas la formación de microflora autóctona, pero desafortunadamente poco se sabe en la actualidad sobre este proceso (Hansen y Olafsen, 1999).

La microflora de la mayoría de invertebrados marinos pueden funcionar como hospederos de bacterias que son patógenas de otros organismos por lo que al ser co-habitantes funcionan como vectores de transferencia de patógenos a estadios larvales, juveniles y adultos de peces crustáceos y moluscos.

Una de las dificultades encontradas en la producción intensiva de huevos y larvas de invertebrados, ha sido la pobre sobrevivencia y crecimiento a nivel larvario, atribuida al ataque oportunista de bacterias (Skjermo y Vadstein, 1999; Alabi, 2000), por lo que se procura el mantenimiento de baja carga bacteriana por diferentes protocolos de desinfección del agua de cultivo, tanto químicos (glutaraldehído, cloramfenicol, florfenicol flumequina, trimetrofrim, sulfadiazina), como físicos (filtración, irradiación luz ultravioleta, ozonación). Los anteriores métodos de desinfección o esterilización parcial pueden reducir o eliminar las bacterias en el agua de los cultivos; sin embargo, estos métodos pueden alterar el equilibrio entre las comunidades microbianas, favoreciendo la proliferación de bacterias oportunistas o el desarrollo impredecible de comunidades bacterianas que difieren de aquellas normalmente encontradas en agua de mar normal (Alabi, 2000). Es por tanto necesario establecer mejores controles

microbianos no agresivos durante la producción intensiva de larvas (Olafsen., 2001).

El uso rutinario de antibióticos durante la crianza de larvas de peces y otros organismos marinos se plantea no aconsejable, ya que puede aumentar el riesgo de promover la resistencia al antibiótico y adversamente pueda influir en la microflora autóctona de la larva (Hansen y Olafsen, 1999; Alabi, 2000), además de los efectos adversos al medio ambiente y salud humana (Lamberth *et al.* 1999). Al respecto, la Unión Europea a regulado y prohibido el empleo de éstos en organismos para consumo humano (Torkildsen *et al.* 1999).

El empleo de probióticos ha demostrado ventajas en la producción controlada de organismos acuáticos en diversas etapas de su desarrollo larval y juvenil, pero por desgracia constantemente aparecen más bacterias con carácter etológico infeccioso que se deben atacar; por lo que la búsqueda de nuevos probióticos más eficaces serían un recurso potencial en la acuicultura marina.

Es imprescindible por ello un mejor control de las interacciones hospedero-bacteria-ambiente (tubo digestivo, hepitelio mucoso etc.), lo que sería un acierto en la crianza de estadios tempranos de organismos marinos (Gatesoupe y Lesel, 1998, Skjermo y Vadstein, 1999) y como un prerrequisito la manipulación de la flora bacteriana, redundando en un aumento de la sobrevivencia larval (Hansen y Olafsen, 1999; Alabi, 2000; Olafsen., 2001).

La investigación de probióticos en la acuicultura se encuentra aun en sus primeras fases de crecimiento, por lo que mucho trabajo al respecto es necesario. Los principales grupos bacterianos que se han probado como probióticos en cultivo de peneidos, cangrejos, moluscos (ostión) y peces principalmente marinos, han sido *Vibriosis*, *Pseudomonas*, *Bacilos*, *Levaduras* y *Lactobacilos*. La información existente es inconclusa, ya que la experimentación no es lo suficientemente robusta para permitir una evaluación crítica de la problemática abordada.

La mayoría de la información y experimentación se ha dirigido a larvas de peces, donde se han obtenido importantes avances en la

reducción significativa de la mortalidad; en orden de magnitud se han dado también logros significativos en el larvicultivo de crustáceos (Gómez-Gil *et al.* 2000).

#### Aplicaciones en la Industria del Larvicultivo.

Douillet y Langdon, (1994); Riquelme *et al.* (1997); Avendaño y Riquelme (1999); Bayes (2000) y Benetti *et al.* (2001), han descrito la importancia y viabilidad de incorporar bacterias (*Vibrio anguillarum*), con la habilidad de producir sustancias inhibitorias (BPI) probióticas o antagonistas en cultivos axénicos de microalgas, como por ejemplo *Isochrysis galbana* e *Isochrysis galbana* var. *Thaitiana*, con el objeto de emplear a éstas como vectores de transmisión de BPI en las etapas críticas del cultivo de larvas y juveniles de bivalvos (*Argopecten purpuratus*, *Crassostrea gigas*), además de funcionar como aceleradores del crecimiento. De la misma forma Riquelme *et al.* (2000), en la misma especie de escalopa del Pacífico evaluó la sobrevivencia larval con base en la capacidad de ingestión, colonización y efecto inhibitorio, de sustancias producidas por diferentes bacterias aisladas de cultivos larvarios comerciales (vibrios), pero de manera directa como alimento vivo en el desarrollo larval, obteniendo resultados satisfactorios.

Skjermo y Vadstein (1999), concuerdan con Riquelme *et al.* (2000) en la apreciación de que la utilización de bacterias con actividad probiótica en el agua de cultivo es posible, además de que una vía más es la trama trófica mediante el alimento vivo (*Artemia* y rotíferos). La actividad probiótica o inmunológica por las vías antes mencionadas es importante, ya que las larvas de organismos acuáticos al eclosionar no poseen ningún sistema inmunológico, por lo que la defensa no específica es de vital importancia en estas etapas tempranas.

Vandengerghé *et al.* (1999), mencionan que los síndromes de zoea 2, y síndrome de la muda mysis-postlarva, son síndromes en los cuales existe una alta mortalidad larvaria de crustáceos (*Litopenaeus vannamei*), estando caracterizados por la presencia de *Vibrio harveyi*, mientras que estos mismos estadios incluyendo

el estadio naupliar, postlarval y juvenil con cargas bacterianas habituales de *Vibrio alginolyticus*, estaban asociados a altas sobrevivencias, por lo que se asume que la actividad probiótica o inmunológica de *Vibrio alginolyticus* sobre *Vibrio harveyi* es un hecho. Se menciona además que otros posibles candidatos con tales características pudiesen ser *Vibrio parahaemolyticus*, *Photobacterium damsela* y *V. mimicus*. Uma *et al.* (1999) observaron en larvas de *Penaeus indicus* el efecto sobre el crecimiento y sobrevivencia al emplear *Lactobacillus plantarum* (como antígeno de *Vibrio harveyi*) bioencapsulado en nauplios de *artemia*, concluyendo sobre la eficacia del antígeno. Esfuerzos similares han sido realizados por Torrento y Torres (1999) con *Penaeus monodon*, utilizando como antígenos en la sobrevivencia larval diferentes cepas de bacilos y pseudomonas.

Lamberth *et al.* (1999), a finales de los 90's realizaron en Noruega el aislamiento de 50 cepas de bacterias comunes, en laboratorios de producción larvaria de moluscos, encontrando solo tres especies que parecen tener actividad antigénica contra bacterias dañinas, *Vibrio pectinica*, *V. anguillarum* y *V. Splendidus*; resultados que se encuentran en fase final de prueba, ya que algunas de estas bacterias han sido reportadas con carácter etológico infeccioso en otros sitios, observando que la patogenicidad pudiese deberse a otros patógenos que actúan en forma conjunta.

Otro posible candidato mencionado por Riquelme *et al.* (1996), que ha sido evaluado por su carácter antagonista contra bacterias del género *Vibrio*, y que incide positivamente en el desarrollo larval de escalopas, es la bacteria denominada *Alteromonas haloplanktis* la cual, mediante sus productos metabólicos, inhibe la acción de dichos vibrios.

Por otra parte, Gatesoupe (1994) aisló del rotífero (*Brachionus plicatilis*) bacterias cuya característica es la producción de ácido láctico muy parecido al del *Lactobacillus plantarum* o *Carnobacterium sp*, observando que aumentaban el valor dietético del rotífero, empleado en la alimentación de larvas de rodaballo. De la misma

manera, García de la Banda *et al.* (1992), pero con carácter mixto, emplearon bacterias con producción de ácido láctico (*Streptococcus lactis* y *Lactobacillus bulgaricus*) en rotíferos y *artemia* como alimento para larvas de rodaballo. Reportaron alta tasas de sobrevivencia, aunque no un buen crecimiento. Suralikar y Sahu, (2001) obtuvieron resultados alentadores sobre la sobrevivencia y crecimiento de larvas de *Macrobrachium rosenbergii*, empleando como parte del alimento *Lactobacillus cremoris*.

Tovar *et al.* (2002) describieron a la levadura *Debaryomyces hansenii*, aislada del tubo digestivo de peces, como productora de poliaminas (espermina y espermedina), las cuales se fijan con gran capacidad al mucus intestinal de larvas de lobina (*Dicentrarchus labrax*), produciendo secreciones de amilasa y tripsina que influyeron positivamente en la sobrevivencia larval pero no en el crecimiento.

Ventajas y desventajas en la aplicación de probióticos como una herramienta en la Acuicultura.

El conocimiento sobre la utilización de probióticos en la acuicultura es un campo sobre el cual se requiere aun demasiada investigación, a fin de contar con ellos como una herramienta que solucione las grandes tasas de mortalidad en los primeros estadios del desarrollo larvario de peces, crustáceos y moluscos, por causa de bacterias oportunistas.

Es importante recalcar que los estudios, hasta ahora no concluyentes, sobre las ventajas de la aplicación de los probióticos en acuicultura han evidenciado que existe una disminución de las grandes tasas de mortalidad larvaria, así como el de generar un aumento de la tasa de crecimiento o metamorfosis; sin embargo, aún existe incertidumbre sobre si las cepas aisladas con capacidad antigénica encontrada en bacilos, vibrios, levaduras y lactobacilos son 100% las responsables del mejoramiento de la sobrevivencia y crecimiento, o existe un proceso que enmascara dicha actividad. Sin duda alguna, la búsqueda de probióticos ha disminuido el empleo de antibióticos debido a los efectos

adversos que causa al medio ambiente y salud humana.

Las posibles desventajas que ahora pudiesen encontrarse, en los incipientes avances en el campo de la búsqueda y actividad de los probióticos de origen marino como herramienta de la industria creciente del larvicultivo, es que aún no existe un control total sobre las bacterias utilizadas a nivel de cultivos larvarios intensivos, debido a los grandes volúmenes de agua y de organismos en cultivo que son manejados, y el poco control de la acción de factores físicos sobre el proceso, lo que podría representar grandes pérdidas (costo-efectividad).

### Bibliografía.

Alabi, A. O., 2000. "The use of probiotics techniques for controlling bacterial diseases in marine invertebrates hatcheries". *Journal of Shellfish Research*, 19(1): 650 pp.

Avendaño, R. E., y C.E. Riquelme, 1999. "Establishment of mixed-culture probiotics y microalgae as food for bivalve larvae". *Aquaculture Research*. 30(11-12): 893-900

Bayes, J., 2000. "Recent developments in molluscs hatchery techniques". *Journal of Shellfish Research*. 19(1): 650.

Benetti, D. D., M.W. Feeley, O. Stevens, S. Zimmerman, J. Alarcon, Y. Minemoto, y A. Baker, 2001. "Mesocosm systems management for semi-intensive larval husbandry of marine finfish". *World Aquaculture Society* 2001. Lake Buena Vista, FLA (USA). 55 pp.

Douillet, P. A., y C.J. Langdon, 1994. "Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg)". *Aquaculture*. 119(1): 25-40.

García de la Banda, I., O. Chereguini, e I. Rasines, 1992. "Influence de lactic bacterial additives on turbot (*Scophthalmus maximus* L) larvae culture". *Bol.Inst.Esp. Oceanogr*. 8(2): 247-254.

Gatesoupe, F.J., 1994. "Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio*". *Aquat. Living. Res*. 7(4): 277-282.

Gatesoupe, F. J., y R. Lesel, 1998. "An environmental approach to intestinal microflora in fish". *Cah. Agric*. 7(1): 29-35.

Gómez-Gil, B., A. Roque y J.F. Turnbull, 2000. "The use and selection of probiotic for use in the culture of larval aquatic organisms". *Aquaculture*. 191(1-3): 259-270.

- Hansen, G.H. y J.A. Olafsen, 1999. "Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish". *Microb. Ecol.* 38(1):1-26.
- Huys, L., P. Dhert, R. Robles, F. Ollevier, P. Sorgeloos y J. Swings, 2001. "Search for beneficial bacterial strains for turbot (*Scophthalmus maximus* L) larviculture". *Aquaculture*.193(1-2):25-37.
- Lambert, C., O. Bergh, L. Torkildsen y T. Magnusen, 1999. "Alternative to antibiotic treatment in scallop larval culture: Introduction y first results". Books of Abstracts: 12<sup>th</sup> International Pectinid Workshop. 5-11 mayo 1999.
- Olafsen, J. A., 2001. "Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture". *Aquaculture*. 200(1-2): 223-247 pp.
- Ringo, E. y T.H. Birkbeck, 1999. "Intestinal microflora of fish larvae and fry". *Aquaculture Research*. 30(2): 73-93 pp.
- Riquelme, C., N. Araya, N. Vergara, A. Rojas, M. Guaita y M. Candia, 1997. "Potential probiotic strains in the culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819)". *Aquaculture*. 54(1): 17-26 pp.
- Riquelme, C., R. Araya y R. Escribano, 2000. "Selective incorporation of bacteria *Argopecten purpuratus* larvae: implications for the use of probiotics in culturing systems of the Chilean scallop". *Aquaculture*. 181(1-2): 25-36 pp.
- Riquelme, C., G. Hayashida, R. Araya, A. Uchida, M. Satomi y Y. Ishida, 1996. "Isolation of a native bacterial strain from the scallop *Argopecten purpuratus* with inhibitory effects against pathogenic vibrios". *Journal Shellfish Research*. 15(2): 369-374.
- Skjermo, J., y O. Vadstein, 1999. "Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae". *Aquaculture*. 177(1-4): 333-343.
- Sorgeloos, P., 1994. "Bioengineering of hatcheries for marine fish and shellfish". Third International Marine Biotechnology Conference IMBC 94 Held in Tromsøe Norway. Olafsen, J. A. Ed. Vol. 3, no. 1-3, 43-45 pp.
- Suralikar, V., y N.P. Sahu, 2001. "Effect of feeding probiotic (*Lactobacillus cremori*) on growth and survival of *Macrobrachium rosenbergii*". *Journal of Applied Animal Research*. 20(1): 117-124.
- Torkildsen, L., O.B. Samuelsen, B.T. Lunestad y O. Bergh, 1999. "Bacterial problems in cultivation of scallops larvae (*Pecten maximus* L) I: In vitro minimum, inhibitory concentrations of the four antibacterial agents in sea water". Books of Abstracts: 12<sup>th</sup> International Pectinid Workshop. 5-11 mayo 1999.
- Torrento, M. y J.L.Torres, 1999. "Isolation y evaluation of indigenous bacteria for the development of probiotics in the biocontrol of luminescent vibriosis in *Penaeus monodon* Fabricius". 4 Symp. On Disease in Asian Aquaculture, Cebu City-Phillipines. 22-26 nov.
- Tovar, D., J. Zambonino, C. Cahu, F.J. Gatesoupe, J., Vazquez-Juárez y R. Lesel, 2002. "Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae". *Aquaculture*. 204(1-2): 113-123.
- Uma, A., T.J. Abraham y V. Sundararaj, 1999. "Effect of a probiotic bacterium, *Lactobacillus plantarum* on disease resistance of *Penaeus indicus* larvae". *Indian Journal of Fisheries*. 46(4): 367-373.
- Vandenberghe, J., L. Verndonck, R. Robles-Arozamena, G. Rivera, A. Bolland, M. Balladares, B. Gómez-Gil, J. Calderón, P. Sorgeloos y J. Swings, 1999. "Vibrios associated with *Litopenaeus vannamei* larvae, postlarvae, broodstock y hatchery probiotics". *Applied y Environmental Microbiology*. 65(6): 2592-2597 pp.

Recibido: 15 de Agosto del 2002.

Aceptado: 26 de Agosto del 2002.