

Importancia de los probióticos en la acuicultura, utilizando *Artemia franciscana* como bioencapsulante

Germán Castro Mejía*, Jorge Castro Mejía, Thalía Castro Barrera,
Alejandra Estrada Zaragoza y Verónica García Castillo.
UAM-X. División de CBS. Depto. El Hombre y su Ambiente.
*gecastro@correo.xoc.uam.mx

Recibido: 17 de junio de 2005.
Aceptado: 21 de julio de 2005.

Resumen

La acuicultura se ha incrementado en el mundo, así como también en México; al ser una actividad que maneja grandes cantidades de organismos por superficie, surgen problemas de alimentación y de sanidad, por lo que los investigadores que apoyan este sector trabajan para proporcionar nuevas técnicas y métodos que ayuden a la obtención de especies, con buena calidad nutritiva y sin enfermedades. Los probióticos, que son células microbianas administradas como suplemento dietético y dirigidas a mejorar la salud del organismo, han empezado a usarse en la acuicultura, a partir de los 90, en especies de tilapias, trucha, carpas y algunos moluscos, sin embargo, falta mucho trabajo científico por realizar para realmente aprovechar esta estrategia biológica. La UAM Xochimilco, ha empezado hacer estudios utilizando *Artemia franciscana* como vector o transmisor de probióticos a peces de ornato, para promover su crecimiento y sobrevivencia, para esto, *Artemia* ha sido bioencapsulada y de esta forma, se convierte en una “cápsula viva” que llega, vía oral al organismo, sin deterioro al medio.

Palabras clave: *Artemia*, probióticos y bioencapsulante.

Summary

Aquaculture has increased throughout the world, as well as in Mexico. Being an activity that manages large quantities of organisms for area, feeding and sanitary problems arise which is why the investigators that support this sector work to provide new techniques and methods that help obtain species with good nutrition quality and without illnesses. Probiotics are microbial cells administered as dietary sup-

plements for the purpose of improving the health of the organism. While probiotics have been used in aquaculture since the 90s in species such as tilapias, trouts, carps and some molluscs, much scientific work is necessary in order to carry out this biological strategy. UAM Xochimilco has begun studies using *Artemia franciscana* as a vector or probiotics transmitter to ornamental fish to promote their growth and survival. In order to do so, *Artemia* has been bio-encapsulated and become a “live capsule” given orally to the organism without deterioration of the environment

Key words: *Artemia*, probiotics and bioencapsulation.

Introducción

En acuicultura se requiere de alimentos con buena calidad nutritiva y además de aditivos o complementos que ayuden a mantener a los organismos saludables y que favorezcan su crecimiento. Algunos de los promotores del crecimiento más utilizados incluyen hormonas, antibióticos, y algunas sales (Fuller, 1992; Góngora, 1998; Klaenhammer y Kullen, 1999). Sin embargo, su uso inapropiado puede resultar en efectos adversos en el animal o en el consumidor final, así como conducir a una resistencia en bacterias patógenas, dando lugar a desequilibrios ambientales (Kautsky *et al.*, 2000). De esta manera, métodos profilácticos alternativos se han propuesto, como ejemplo el uso de probióticos, que son, células microbianas administradas como suplementos dietéticos dirigidos a mejorar la salud. Esta estrategia biológica está siendo investigada en acuicultura, ya que el beneficio que juegan las bacterias no patógenas para proteger a los organismos contra infecciones es enorme, pues al producir compuestos inhibidores o bien a través de la estimulación del sistema inmunológico del animal, compiten contra mi-

croorganismos nocivos (Gibson *et al.*, 1998; Verschuere *et al.*, 2000).

Los probióticos son ampliamente utilizados en la cría de cerdos y aves, pero poco se ha hecho para incorporarlos en la acuicultura. En la acuariofilia, la alimentación de los peces de ornato es un aspecto sobre el cual, investigadores desarrollan grandes esfuerzos para garantizar la estabilidad del proceso de cultivo y para mantener la calidad y vistosidad de dichos organismos (Gelabert *et al.*, 1996).

Relacionado con la alimentación, en los primeros estadios larvales de los peces, se encuentra el alimento vivo como: copépodos, nemátodos, rotíferos y *Artemia* (Bhat, 1992). Este último organismo se considera el más utilizado en acuicultura debido a numerosas ventajas, dentro de ellas sobresalen: su valor nutritivo, fácil digestión, alta tolerancia a diversos medios de cultivo, así como su fácil manejo. Una de las ventajas que sobresalen de *Artemia* es que puede emplearse como transportador o conductor de componentes que son difíciles de administrar a peces y crustáceos como son nutrientes esenciales, pigmentos, profilácticos y terapéuticos (Leger *et al.*, 1987). A este proceso se le conoce como técnica de bioencapsulación, la cual ofrece múltiples beneficios ya que al incorporar estos componentes en el cuerpo de *Artemia* se está evitando que éstos vayan al agua y deterioren la calidad de la misma; por otra parte, la bioencapsulación facilita que estos componentes lleguen directamente a los consumidores, dando como resultado, mejor calidad nutritiva del alimento vivo.

Antecedentes Probióticos

El concepto moderno de probióticos se formuló hace tan sólo 25 años. Parker (1974), los describió como “organismos y sustancias que contribuyen a un balance microbiano intestinal”. Esta definición fue posteriormente concretada como “un suplemento microbiano vivo que afecta beneficiosamente al huésped animal al mejorar el balance microbiano intestinal” (Fuller, 1989). Tannock (1997), notó que el efecto en el “balance microbiano intestinal” no había sido demostrado en la mayoría de los casos, proponiendo que se hablara de “células microbianas administradas como suplementos dietéticos dirigidos a mejorar la salud”.

La mayoría de los intentos para crear probióticos se habían llevado al cabo, aislando y seleccionando cepas de ambientes acuáticos. Estos microbios fueron

de los géneros *Vibrio*, *Pseudomona*, bacterias del ácido láctico, *Bacillus* y levaduras. Se buscaban tres características principales en los candidatos a mejorar la salud de su huésped: 1) mostrar antagonismo a patógenos *in vitro*; 2) su potencial de colonización debía estar documentado y, 3) que las pruebas realizadas confirmaran que algunas cepas podían aumentar la resistencia a enfermedades de su huésped.

Muchos otros efectos benéficos se esperaban de los probióticos, por ejemplo, la competencia con patógenos por nutrientes o por sitios de adhesión y estimulación del sistema inmunológico. No es necesario que el probionte sea un enemigo natural del patógeno, sino que debe prevenir el daño causado al huésped usualmente a través de la competencia, o por lo menos debe producir sustancias que inhiban el crecimiento o adherencia del microorganismo dañino.

Los primeros probióticos probados en peces, fueron preparaciones comerciales diseñadas para animales terrestres. Aun sabiendo que la sobrevivencia de esas bacterias era incierta en el ambiente acuático. Por otra parte, es de resaltar que las larvas de peces se encuentran altamente expuestas a desórdenes gastrointestinales asociados a la microbiota, ya que empiezan a alimentarse aunque el tracto digestivo aún no se encuentre totalmente desarrollado (Timmermans, 1987), y aunque el sistema inmunitario se encuentre aún incompleto, por lo que se encuentran sin protección, siendo aquí donde los tratamientos con prebióticos podrían ser recomendables.

Entre los probióticos más estudiados se encuentran las bacterias y las levaduras. Algunos ya se comercializan bajo la forma de preparados, que contienen uno o varios microorganismos vivos.

De los géneros de bacterias más investigados están: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Escherichia*, los dos primeros son los que presentan resultados más consistentes. Los *Lactobacilli* fueron los primeros microorganismos en ser suministrados en su forma viva, por vía oral, con el objetivo de producir efectos benéficos a la microbiota digestiva (Figura 1, pág. 41).

Hacia 1907, el biólogo ruso Ely Metchnikoff enuncia que la vida humana se puede prolongar consumiendo bacterias lácticas del yogurt (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) surgiendo así la teoría de que las bacterias nocivas en el intestino pueden ser eliminadas por la acción de estas bacterias. Sin embargo, estudios posteriores demostraron que el *Lactobacillus bulgaricus*, que era benéfico, moría al pasar por los jugos gástricos y no

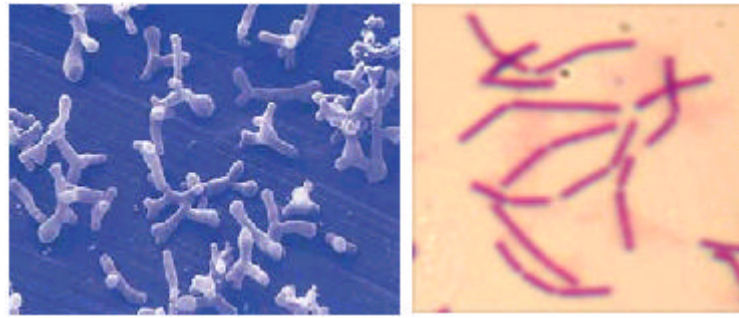


Figura 1. a) *Bifidobacterium* b) *Lactobacillus*. Fotografía de dos probióticos utilizados en acuicultura.

era capaz de sobrevivir en el intestino. Aunque esta teoría se desechó, siguió habiendo investigaciones sobre la flora intestinal. En 1921, Rettger y sus colaboradores demostraron que las bacterias lácticas en las cuales Metchnikoff basó su hipótesis, no eran capaces de sobrevivir en el aparato digestivo. Años después, en 1930 el Doctor Minoru Shirota aisló, a partir del intestino humano, lactobacilos y después de varias investigaciones y selecciones logró fortalecerlos, haciéndolos resistentes a los jugos gástrico y biliares. Así, a sugerencia de su maestro el Doctor Kenzi Kiyono los nombró *Lactobacillus casei* Shirota en honor a su nombre, siendo éste un lactobacilo que puede sobrevivir en el tracto digestivo e inhibir el crecimiento de bacterias nocivas.

Artemia como biocápsula

La bioencapsulación es un proceso mediante el cual un organismo vivo incorpora un determinado producto o agente bioencapsulante vía oral, de esta forma, dicho organismo se convierte a los efectos prácticos en una cápsula viva.

La naturaleza del agente bioencapsulante que se suministra puede variar dependiendo de los deseos del cultivador y generalmente el proceso está dirigido a la incorporación de algún elemento esencial para la dieta del depredador.

Diferentes tipos de alimento vivo han sido usados para alimentar larvas de diversos organismos acuáticos. Estos incluyen copépodos, nemátodos, rotíferos y nauplios de *Artemia*. Este último organismo, es considerado como la mejor dieta para organismos zoófagos y se suministra como alimento vivo a más del 85% de las especies en acuicultura (Bhat, 1992).

La técnica de bioencapsulación empieza a desarrollarse en la década de los 70 existen numerosos trabajos al respecto, entre los que destacan los de Nordeng y Bratland (1971), Kelly *et al.* (1977); en los 80 y 90 los desarrollados por Watanabe *et al.* (1980),

Sakamoto *et al.* (1982), Leger *et al.* (1987) y Gelbert *et al.* (1996), quienes en su mayoría utilizan dicha técnica para mejorar la calidad nutricional de *Artemia* al enriquecerla con diversos ácidos grasos.

Según Leger *et al.* (1986), las primeras sugerencias del empleo de la técnica de bioencapsulación las realiza Morris (1956). Una década después, Forster y Wickins (1967) demuestran que el valor nutritivo de los nauplios de *Artemia* puede ser incrementado con la aplicación de esta técnica.

Probióticos en la acuicultura

En la actualidad existen pocos trabajos de probióticos en acuicultura, algunos de ellos son los realizados por Douillet y Langdon (1994), quienes utilizaron un tipo de levadura (CA2) para incrementar la supervivencia de larvas de *Crassostrea gigas*. Gate-soupe (1994), logró mejorar la supervivencia de larvas de *Scophthalmus maximus* al administrarles bacterias ácido lácticas, Vázquez-Juárez *et al.* (1994) realizaron un experimento con levaduras aisladas de trucha arco iris silvestre y reintroducidas a otros organismos de la misma especie en cultivo, lo que incrementó significativamente el crecimiento de los mismos; Bogut *et al.* (1998) suministraron *Streptococcus faecium*, logrando incrementar el crecimiento y eficiencia alimenticia en carpas (*Cyprinus carpio*) y desplazando a *Escherichia coli* del tracto intestinal de las mismas, Lara (1999) llevó al cabo un trabajo sobre el efecto de la utilización de tres distintos probióticos en la alimentación de *Tilapia nilótica* (*Oreochromis niloticus*) sometida a diferentes condiciones de estrés, obteniendo los mejores resultados en crecimiento y supervivencia con el hongo *Saccharomyces cerevisiae*. Uc Huchin (1999), hizo un estudio comparativo del efecto de la inclusión de una mezcla probiótica (*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus faecium*) y un antibiótico (*Terramicina*) como promotores de crecimiento en dietas de *Tilapia nilótica* (*O. niloticus*) observando que ciertas bacterias, de la microflora, que ocasionaban disminución en el aprovechamiento del alimento, eran elimina-



Figura 2. (a) Fotografía de un metanauplio de *Artemia* sin probiótico y (b) metanauplio después de 2 horas de incorporación de *L. casei*.

das al administrarse el probiótico en la dieta, y por lo tanto aumentaba el aprovechamiento del mismo. Por otra parte el trabajo de Tovar *et al.* (2000) con lubina europea (*Dicentrarchus labrax*), utilizando dos levaduras, como promotores de crecimiento (*S. cerevisiae* y *Debaryomyces hansenii*), señalan que encontraron un menor crecimiento, con las dietas que contenían ambas levaduras, pero lo atribuyen a la textura de las mismas.

En el laboratorio de producción de alimento vivo de la UAM-Xochimilco se ha incorporado *Lactobacillus casei* en metanauplios de *Artemia* con buenos resultados. Estos metanauplios se dieron como alimento para dos peces de ornato *Astronotus ocellatus* y *Pterophyllum scalare* durante un periodo de nueve semanas obteniendo un buen crecimiento y sobrevivencia de los peces (Figura 2).

Bibliografía

1. Bhat, B. V. Potentials and prospects for an *Artemia* aquabusiness in India. *Seafood-Export Journal*. Vol. 24. No. 6. pp. 27-31. 1992
2. Bogut, I., Milakovic, Z., Brkic, S., Zimmer, R. Influence of probiotic (*Streptococcus faecium* M74) on growth and content of intestinal microflora in carp (*Cyprinus carpio*). *Czech. J. Anim. Sci.* 43, 231-235. 1998.
3. Douillet, P. and Langdon, C. J. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture* 119: 25-40. 1994.
4. Forster, J. R. M. and Wickins, J. F. *Mariculture*. Committee ICES. 1967. p 9-13.
5. Fuller, R. *History and development of probiotics*. In: Fuller, R. Ed. *Probiotics: the Scientific Basis*. Chapman & Hall, New York. 1992. p 1-8.
6. Gatesoupe, F. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic vibrio. *Aquatic Living Resour.* 7: 277-282. 1994.
7. Gelabert, F., Castro, T., Conrado, G. y Castro, G. Bioencapsulación en *Artemia*: mejoramiento de su valor nutricional. *Oceanología* 3 (11) :27-34. 1996
8. Gibson, L. F., Woodworth, J. and George, A. M. Probiotic activity of *Aeromonas* media on the Pacific oyster, (*Crassostrea gigas*), when challenged with *Vibrio tubiashii*. *Aquaculture* 169: 111-120. 1998
9. Góngora, C. M. *Mecanismos de resistencia bacteriana ante la medicina actual*. McGraw-Hill, Barcelona. 1998. p 456.
10. Kautsky, N., Ronnback, P., Tedengren, M. y Troell, M. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture* 191: 145-161. 2000.
11. Kelly, R. O., Haseltine, A. W. y Ebert, E. E. *Aquaculture* 10: 1-16 1977.
12. Klaenhammer, T. D. and Kullen, M. J. Selection and design of probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 50: 45- 57. 1999.
13. Lara, F. M. *Efecto de la utilización de probióticos en la alimentación de la Tilapia nilótica (Oreochromus niloticus) sometida a diferentes*

- condiciones de estrés. Tesis de Maestría. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I.P.N. Unidad Mérida, Mérida Yucatán. 1999. México. p 67.
14. Leger, P., Bengston, D. A., Simpson, K. and Sorgeloos, P. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanographic. Marine Biology Annulare Rev.* 24:521-623. 1986.
 15. Leger, P., Naessen, E. and Sorgeloos, P. International study on *Artemia* XXXV. Techniques to manipulate the fatty acids profile in *Artemia nauplii* and the effect on it's nutritional effectiveness for the marine crustacean *Mysidopsis bahia* (M). *Artemia research and it's applications. Aquaculture.* 3: 411-724. 1987.
 16. Morris, R. W. Bull. Mus. *Oceanographic. Marine Biology.* No. 1082 62 pp. 1956.
 17. Nordeng, H. and Bratland, P. J. *Coms. Perm. Int. Explor. Mer.* 34:51-57. 1971.
 18. Parker, R. B. Probiotics, the other half of the antimicrobial story. *Animal Nutrition Health* 29:4-15. 1974.
 19. Tannock, G. W. Modification of the normal microbiota by diet, stress, antimicrobial agents, and probiotics. In: Mackie, R. I., Withe, B. A. and Isaacson, R. E. Eds. *Gastrointestinal Microbiology*, Vol. 2, *Gastrointestinal Microbes and Host Interactions*. Chapman and Hall Microbiology Series, International Thomson Publishing, New York, 1997. p 434-465.
 20. Timmermans, L. P. M. 1987. Early development and differentiation in fish. *Sarsia* 72, 331-339.
 21. Tovar, D., Zambonino, J. L., Cahu, C., Gate-soupe, F. J. and Vázquez, R. Efecto de la administración de levaduras en el proceso de maduración del tracto digestivo de peces. En: *Avances en Nutrición Acuícola. V memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Mérida, Yucatán, 2000. México.
 22. Uc Huchín, N. *Estudio comparativo del efecto de la inclusión de una mezcla probiótica (Lactobacillus acidophilus y Streptococcus faecium) y un antibiótico (Terramicina) como promotores de crecimiento en dietas de tilapia nilótica (O. niloticus)*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yuc. 1999. México, p 37.
 23. Vázquez-Juárez, R., Ascensio, F., Andlid, T. and Gustafsson, L. Cell surface hydrophobicity and its relation to adhesion of yeasts isolated from fish gut. *Colloids and Surfaces B: Biointerfases* 2, 199-208. 1994.
 24. Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology Moecular. Biology. Rev.* 64:655-671. 2000.
 25. Watanabe, T., Oowa, F., Kitajima, C. and Fujita, S. Relationship between dietary value of brine shrimp *Artemia* and their content of W3 highly unsaturated fatty acids. *Bulletin. Japan. Society. Scientific. Fish* 46:35-41. 1980.