



Uso de microorganismos benéficos en el alimento vivo para controlar la aparición de enfermedades durante el cultivo de animales acuáticos

Luisa Marcela Villamil Díaz

Universidad Jorge Tadeo Lozano

luivil31@utadeo.edu.co

Sandra Milena Infante Villamil

Grupo de Investigación en Cultivo y Manejo de Organismos Acuáticos, GICMOA.

savinco84@yahoo.com

Orlando Pedro Lecompte Pérez

Universidad Jorge Tadeo Lozano

orlando.lecompte@utadeo.edu.co

Resumen

La cría de larvas de peces y crustáceos es una etapa crucial de la acuicultura, durante la cual se deben implementar cultivos de presas vivas como rotíferos, braquiópodos, anélidos y copépodos que servirán de alimento a las larvas. Estos cultivos auxiliares son potencialmente un vector para el ingreso de patógenos que pueden ocasionar grandes mortalidades. Por esta razón es cada vez más frecuente el tratamiento con antibióticos, con el fin de prevenir o tratar enfermedades en cultivos acuáticos. Sin embargo, el uso indiscriminado de los mismos ha facilitado la aparición de cepas de bacterias multiresistentes, con graves consecuencias ambientales y para la salud animal y humana. Múltiples alternativas biotecnológicas, preventivas y curativas, tales como el uso de probióticos, bacteriófagos e inmunoestimulantes se han desarrollado como estrategias para reducir el uso de antibióticos en los cultivos, ya sea para eliminar patógenos o para fortalecer el sistema inmune de los organismos cultivados.

Palabras clave: acuicultura, probióticos, bacterias lácticas, cultivos auxiliares.

Abstract

Larval rearing of fish and crustaceans is a crucial stage in aquaculture in which live prey culture, such as rotifers, brachiopods, annelids and copepods, must be implemented as food source for larvae. These auxiliary cultures can be a potential vector for pathogens entry that can cause high mortality. This is one reason for antibiotic use in aquaculture leading to the growth of multiresistant bacterial strains. However, the wrong use of this tools it's also a great concern worldwide regarding environmental, animal and human health issues. Multiple biotechnological preventive and therapeutic strategies, such as the use of probiotics, bacteriophages and immune stimulants, have been developed to reduce the use of antibiotics in aquaculture in order to eliminate pathogens as well as to strengthen the immune system of the cultured organisms.

Keywords: aquaculture, antibiotics, biocontrol, pathogens, live prey.

Índice temático

[Introducción. Presas vivas](#)

[Biocontroladores. Concepto y aplicaciones](#)

[Uso de probióticos en los cultivos de presas vivas](#)

[Limitaciones metodológicas de la aplicación de probióticos](#)

[Referencias](#)

OPCION: CLICK DIRECTO A CADA CAPITULO

Introducción. Presas vivas¹

Durante el cultivo de las fases larvarias de distintos animales acuáticos, se requiere el establecimiento de los llamados cultivos auxiliares o de presas vivas, que son representados principalmente por microalgas y microcrustáceos, los cuales son ventajosos respecto al alimento concentrado o muerto, ya que por sus características de color y movimiento, atraen a los consumidores. De igual forma, las presas vivas pueden contribuir a evitar el deterioro de la calidad del agua al reducir la acumulación de material y su descomposición (Negrete Redondo *et al.*, 2010: 202). Entre los organismos usados con mayor frecuencia en maricultura están los rotíferos *Brachionus plicatilis* y *Brachionus rotundiformis* y braquiópodos del género *Artemia* tales como *Artemia salina* y *Artemia franciscana*, siendo su uso prácticamente insustituible en la producción comercial de peces e invertebrados marinos (Castellanos *et al.*, 1999: 1-113; Sorgeloos *et al.*, 2001: 147). De igual forma, entre los organismos elegidos como presas vivas para peces, incluyendo los ornamentales están las pulgas de agua o *Daphnia*, y los gusanos *Tubifex* y *Tenebri*. Estos organismos tienen un notable efecto positivo en el crecimiento y la reproducción de los animales cultivados (Soriano *et al.*, 1993. En: Negrete Redondo *et al.*, 2008: 255) y para el caso exclusivo de la pulga de agua *Daphnia* se han reportado mejores resultados en la coloración del escalar *Pterophyllum scalare*, respecto al uso de dietas secas comerciales (Soriano Salazar y Hernández Ocampo, 2002: 31). La elección de las presas vivas-tiene que ver con su tamaño,-con el tamaño de la boca del animal que lo consumirá, y también con el valor nutritivo que aporte a la especie en cultivo (Lee, 2003: 440).

Los rotíferos son animales metazoarios microscópicos filtradores no selectivos, se alimentan de materia orgánica particulada en la columna de agua y también de organismos planctónicos. Su dieta incluye microalgas, levaduras, bacterias y protozoarios, y se estima que la cantidad de alimento consumido por día equivale a más de cuatro veces su peso (Castellanos *et al.*, 1999: 1). Su valor nutritivo, para las larvas de peces o invertebrados depende en gran parte de las microalgas que se utilicen para alimentarlos, entre las cuales se destacan *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* y *Pseudoisochrysis paradoxa*, por su aporte de ácidos grasos esenciales (Bromley y Howell, 1985:31).

¹ En Colombia “presas vivas” se conoce también, ampliamente, como “alimento vivo”.

De manera complementaria, existen actualmente otros productos comerciales que permiten suplementar los niveles de ácidos grasos poliinsaturados y vitaminas en los rotíferos.

El cultivo masivo de rotíferos, se basa en la alta eficiencia reproductiva presente especialmente durante la fase partenogénica (reproducción basada en el desarrollo de células sexuales femeninas no fecundadas) de su ciclo vital. El período de vida depende entre otros factores de la temperatura del cultivo, llevándose a cabo en un ambiente controlado a 25°C por un tiempo de 3 a 4 días aproximadamente. Generalmente, el estado adulto se alcanza después de 1 a 2 días, y las hembras comienzan a poner huevos aproximadamente cada cuatro horas. Se cree que las hembras pueden producir diez generaciones de progenie antes que ellas eventualmente mueran (Levens y Sorgeloos, 1996: 61).

Otra presa viva usada con gran frecuencia para la alimentación de las fases larvianas de los organismos cultivados es la *Artemia salina*, por sus características de desarrollo, el pequeño tamaño de sus estadios larvales, nauplio y metanauplio, así como su fácil manejo. La *Artemia* suele administrarse enriquecida con ácidos grasos insaturados y vitaminas, debido a su capacidad para concentrar selectivamente algunos compuestos lipídicos administrados con la dieta (Zhukova *et al.*, 1998: 499).

Sin embargo, para algunos autores, la *Artemia* y los rotíferos del género *Brachionus* no siempre son eficientes como alimento vivo, debido a factores como la composición bioquímica, el comportamiento natatorio y su tamaño, considerándose como buena alternativa de alimento vivo para peces copépodos del orden Calanoidea de los géneros *Centropages*, *Labidocera*, *Eurytemora* y *Acartia* (Drillt *et al.*, 2011: 831). Los copépodos calanoideos son ampliamente estudiados con fines de uso como alimento vivo, debido a su abundancia en las aguas superficiales de las costas donde generalmente representan una fuente de alimento natural para fases larvianas de peces e igualmente porque tienen en su ciclo de vida una fase de latencia o desarrollo suprimido, la cual puede presentarse dependiendo de la especie en el embrión, nauplio, copepodito o fase adulta (Marcus, 2005: 4). Para el caso de algunas especies de peces como pargos (Familia Lutjanidae) y meros (Familia Serranidae), cuando sus larvas son alimentadas con una dieta a base de nauplios de rotíferos y *Artemia* se obtienen bajas supervivencias de las mismas (Nellen, 1986: 215-250). De otra parte, se ha demostrado que al alimentar las larvas del lenguado *Paralichthys olivaceus* con una dieta a base de nauplios de copépodos Calanidos como *Schmackeria poplesia* se produce

incremento en su supervivencia, así como en el crecimiento y composición de los nutrientes de estos peces, en comparación con aquellos alimentados con el rotífero *B. plicatilis* y con *Artemia* sp. (Guangxing y Donghui, 2009: 363).

Existe un problema común al uso de presas vivas como alimento para larvas de peces y otros organismos marinos, y es que pueden constituirse en vehículo de entrada de bacterias oportunistas indeseables durante el cultivo. Es por esta razón que la comunidad bacteriana presente en los cultivos de *Artemia* y otras presas vivas debe ser continuamente monitoreada para evitar la entrada de patógenos que causan mortalidad principalmente en los estadios larvarios de organismos marinos cultivados (Verschuere *et al.*, 1999: 2528; Defoirdt *et al.*, 2007: 472), ya que durante estas primeras etapas de vida los mecanismos de defensa no son plenamente funcionales (Magnadottir *et al.*, 2005: 429; Øvergård *et al.*, 2011: 203).

Con el fin de evitar la aparición, propagación e infección de los peces con agentes patógenos, se ha recurrido al uso de antibióticos de amplio espectro. Esta práctica también se realiza con fines preventivos o incluso como promotores de crecimiento. Sin embargo, actualmente existe una gran preocupación mundial por las consecuencias que este uso puede acarrear, tales como la aparición de cepas bacterianas multiresistentes y la alteración de la microbiota normal del agua en las piscifactorías y ecosistemas próximos a ellas, que a largo plazo pueden incluso originar efectos impredecibles sobre la salud de los consumidores (Smith *et al.*, 1994: 273; Alderman y Hastings, 1998: 139; Huys *et al.*, 2007: 228). Diversos estudios han descrito cambios en la microbiota acuática en piscifactorías y la aparición de bacterias resistentes a antibióticos comúnmente usados como sulfonamidas (Hoa *et al.*, 2011: 2894), tetraciclinas (Le y Munekage, 2004: 922), quinolones (Millano *et al.*, 2011: 107) que incluso pueden llegar a poner en riesgo la estabilidad y estado de los ecosistemas próximos (Zou *et al.*, 2011: 2913). Esta problemática es muy compleja dado que las bacterias pueden hacer una transferencia horizontal de genes asociados a la resistencia a ciertos antibióticos (Davison, 1999: 73). Los genes de resistencia son un problema de contaminación muy importante en el Siglo XXI, cuyo origen está dado por el uso inadecuado de antibióticos en acuicultura y otras industrias (Costa *et al.*, 2008: 40; Dantas *et al.*, 2008: 100) de tal manera que pueden aparecer en cuerpos de agua costeros, facilitar su distribución y constituirse en un riesgo de contaminación global. El uso de antibióticos y la aparición de bacterias resistentes a antibióticos así como los genes de resistencia a antibióticos todavía no ha sido documentado, en Colombia, en

sistemas de cultivo de peces e invertebrados marinos, por lo cual sería muy importante hacer un estudio diagnóstico sobre el tema.

En el presente artículo se mencionarán alternativas biotecnológicas al uso de antibióticos y se hará referencia a los trabajos de investigación realizados en el Grupo de Investigación en Cultivo y Manejo de Organismos Acuáticos, GICMOA, de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, así como a otras publicaciones relevantes en esta área del saber.

Biocontroladores. Concepto y aplicaciones

La acuicultura exige el mantenimiento de un gran número de ejemplares en espacios reducidos, lo que trae consigo el riesgo de aparición de enfermedades infecciosas que pueden llegar a generar grandes pérdidas económicas, que de acuerdo con reportes de la FAO fueron del orden de US\$ 3 billones en 2007 (FAO, 2007:1-162). Dentro de los agentes patógenos infecciosos, las bacterias constituyen uno de los grandes riesgos que afectan esta producción sobre todo durante el cultivo larvario (Munro *et al.*, 1994: 500; Goldschmidt-Clermont *et al.*, 2009: 81). Es claro entonces que controlar las mortalidades de los organismos cultivados durante su ciclo productivo, es una prioridad para lograr un incremento en la productividad de la industria acuícola en un esquema de sostenibilidad ambiental. Se sabe que la mera presencia de una bacteria patógena en un cultivo puede no ser suficiente para desencadenar la enfermedad y que se requieren ciertas condiciones, tanto en los sistemas de cultivo como en los propios animales, para que se desarrollen las enfermedades y ocurra la mortalidad.

Para lograr una prevención de enfermedades exitosa es necesario la incorporación de distintas estrategias que incluyen un manejo idóneo de los cultivos, la disminución de las densidades de individuos, la mejora de las dietas (Reitan *et al.*, 1993: 257; Roennestad *et al.*, 1999: 1201) y de la calidad del agua (Skjermo *et al.*, 1997: 13), así como una desinfección preventiva de huevos, que es efectiva en algunas especies (Salvesen y Vadstein, 1995: 155) y el uso de alternativas biotecnológicas encaminadas tanto a eliminar bacterias patógenas, así como a estimular el sistema inmune de los organismos cultivados (Defoirdt *et al.*, 2007: 473).

El fortalecimiento de los mecanismos de defensa de los organismos cultivados puede lograrse a través de una estimulación de las defensas no específicas con inmunoestimulantes como el β

glucano, péptido glucano, algunas vitaminas (Kunttu *et al.*, 2009: 850) y otros polímeros como la kappacarragenina extraída de algas marinas como *Hypnea musciformis* capaz de estimular la producción de proteínas claves en el sistema inmune de los peces como citoquinas proinflamatorias y transferrina (Infante Villamil *et al.*, 2011). De la misma manera, una disminución en la mortalidad causadas por agentes infecciosos en acuicultura también puede alcanzarse mediante el uso de vacunas contra patógenos específicos (Lapatra *et al.*, 2010: 143; Shoemaker *et al.*, 2009: 573). Sin embargo, su implementación se reserva para el cultivo de peces, ya que los invertebrados como los camarones, han demostrado poseer algún tipo de memoria inmunológica pero no un sistema adaptativo de defensa como tal que cuente con la presencia de linfocitos B y T (Karyn *et al.*, 2008: 4885). El uso de vacunas en Colombia todavía no es una realidad, ni siquiera en el cultivo de especies continentales como la tilapia, por lo cual hace falta realizar esfuerzos encaminados a evaluar la efectividad de vacunas comerciales contra los patógenos locales o al desarrollo de autovacunas que eleven la supervivencia en los cultivos. Es importante precisar, que la aplicación de inmunoestimulantes ha dado muy buenos resultados experimentalmente, sin embargo su uso masivo tiene algunas restricciones como son el limitado tiempo de acción efectiva y el posible daño que pueden ocasionar a los animales si su administración es prolongada (Vadstein, 1997: 401).

Otra aproximación práctica es la eliminación de patógenos en sistemas de cultivo. Entre las estrategias antibacterianas se destaca el uso de bacteriófagos que son virus que infectan selectivamente determinadas especies bacterianas y que ocasionan su muerte a través de la lisis de la membrana citoplasmática (Shivu *et al.*, 2007: 322). Estos agentes utilizados para tratar o controlar las infecciones bacterianas, su estudio aplicado en patógenos de peces y en acuicultura son populares desde 1990 (Nakai, 2010: 258). Entre sus ventajas está el rango estrecho de hospedadores, lo cual implica que no afectan la microflora normal ambiental o intestinal y la permanencia de los bacteriófagos ante la presencia de bacterias susceptibles, evitando así múltiples administraciones de los mismos y posiblemente su auto-transferencia a hospederos cercanos (Barrow y Soothill, 1997: 268). Estudios como el de Prasad *et al.* (2011: 161), muestran resultados positivos de la terapia con bacteriófagos en el cultivo del bagre *Clarias batrachus*. Los autores reportaron mortalidad nula de este pez durante una infección experimental con la bacteria patógena *Flavobacterium columnare*, junto con una desaparición de los síntomas, test bacteriológicos negativos y bacteriófagos detectables. Es importante aclarar, que a pesar de las ventajas del uso de

bacteriófagos en acuicultura, también se han descrito algunas limitaciones como es la capacidad de las bacterias para adaptarse a los fagos, resultando después de un tratamiento continuado prácticamente inofensivos contra las bacterias que se desean controlar (Summers, 2001: 445).

Otras prácticas de control microbiano en acuicultura están orientadas hacia la inhibición del crecimiento de los patógenos. Esto se ha logrado mediante el uso de ácidos grasos de cadena corta (Defoirdt *et al.*, 2009: 680), o incluso mediante la inhibición de los caracteres de virulencia por medio de la disrupción del *quorum sensing* que es el mecanismo por el cual las bacterias se comunican entre sí y coordinan la expresión de ciertos genes (Tinh *et al.*, 2007: 45).

Otros estudios han sido orientados a la obtención de sustancias con actividad antibacteriana de diversos orígenes, así se ha descrito que extractos de diferentes partes del manglar *Avicennia marina*, como tallos, raíces, hojas y especialmente las semillas han demostrado actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas como *Vibrio fluvialis*, *Vibrio vulnificus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, demostrando resultados satisfactorios en el cultivo de la tilapia *Oreochromis niloticus* infectada con la bacteria *V. fluvialis* (Abou-Elela *et al.*, 2009: 42-43).

Algunas microalgas como *Oedogonium capillare*, han mostrado tener efecto antibacteriano *in vitro* contra diferentes bacterias aisladas del pez dorado *Carassius auratus* (Negrete Redondo *et al.*, 2006: 209) e *in vivo*, sobre *Vibriofluvialis* en infecciones experimentales, provocando incremento de la supervivencia en más del 80% de los peces (López *et al.*, 2007: 439). Adicionalmente, dicha microalga ha demostrado reducir la carga bacteriana del gusano *Tubifex tubifex* hasta en un 74%. Este gusano utilizado como alimento vivo, es un conocido portador de microorganismos como *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila* y diferentes especies de *Vibrio* (Negrete Redondo *et al.*, 2010: 209) que son considerados como patógenos potenciales del ser humano y de animales de cultivo. Es importante precisar que el uso de bacteriófagos es una alternativa terapéutica poco evaluada en Colombia en acuicultura y que para llegar a su aplicación habría que empezar por estudiar la microbiota asociada a los cultivos, aislando bacterias patógenas y también diversos bacteriófagos específicos capaces de inducir la lisis de estas bacterias.

Existe un gran interés en la comunidad científica por aportar soluciones efectivas a la mortalidad y pérdidas económicas causadas por agentes infecciosos en cultivos acuáticos. Algunas soluciones propuestas incluyen el uso de controladores biológicos en los cultivos, así como de

probióticos, entre los que se pueden listar diversas especies de microalgas, bacterias y levaduras con resultados prometedores en términos de incremento de productividad y sostenibilidad ambiental.

Uso de probióticos en los cultivos de presas vivas

Dado que la aplicación de vacunas no es efectiva en los estadios larvarios de peces marinos porque el sistema inmune adaptativo no es plenamente funcional (Magnadottir *et al.*, 2005: 429; Mulero *et al.*, 2008: 2981) y que a pesar de la implantación de algunas medidas preventivas de control de enfermedades se siguen presentando mortalidades importantes en los criaderos, la aplicación de bacterias probióticas surge como una terapia de sumo interés que es aplicable a los cultivos auxiliares o alimento vivo. Como se mencionó anteriormente, la reducción de la carga bacteriana en las presas vivas es de suma importancia para el control microbiológico durante el cultivo de larvas. El uso de compuestos químicos antibióticos acarrea problemas relacionados con el tratamiento de los residuos y con la propia viabilidad de los organismos tratados. Con el propósito de evitar el uso excesivo de antibióticos, e incrementar la supervivencia en los cultivos, una de las opciones evaluadas por el Grupo de Investigación en Cultivo y Manejo de Organismos Acuáticos, GICMOA, de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, ha sido el suplemento de bacterias seleccionadas al agua de cultivo, denominadas bacterias probióticas. Las bacterias probióticas son microorganismos que al ser administrados a los peces deben mantenerse vivas en el tracto gastrointestinal porque ejercen efectos benéficos como la inhibición del crecimiento de patógenos (Santos *et al.*, 1996: 13), a la vez que incrementan peso y talla de los organismos cultivados (Noh *et al.*, 1994: 480) y en algunos casos favorecen el aumento en la supervivencia de peces infectados con otras bacterias patógenas (Robertson *et al.*, 2000: 235).

La inhibición de patógenos por bacterias probióticas se ha asociado a mecanismos como la competencia por nutrientes y por los sitios de adherencia en el tracto gastrointestinal (Ringø, 1999: 229), la producción de sustancias antibacterianas y antivirales (Direkbusarakom *et al.*, 1998: 266; Vázquez *et al.*, 2006: 661; Gatesoupe, 2008: 107), la modulación de la respuesta inmunitaria no específica (Villamil y Martínez-Silva, 2009: 151) y también por la producción de sustancias como lipasas, quitinasas y proteasas que favorecen la digestión (Wang *et al.*, 2000: 493; Villamil y Novoa, 2009: 91). Entre las bacterias probióticas, uno de los grupos frecuentemente usados son las

bacterias del ácido láctico (LAB, por sus siglas en inglés), que además de ser administradas a los peces a través del agua de cultivo, también pueden ser incorporadas al cultivo a través de presas vivas como los rotíferos. Los beneficios de la incorporación de LAB en el sistema de cultivo se han manifestado tanto en el incremento del crecimiento de los rotíferos, así como en una mayor resistencia de los peces frente a infecciones experimentales (Harzevili, 1998: 411).

Villamil *et al.* (2003: 43), describieron la capacidad que tiene la bacteria láctica *Lactobacillus brevis* (1×10^8 bacteria/ml) de eliminar patógenos como *Vibrio alginolyticus* en cultivos de *Artemia salina*. Dicha actividad, se atribuyó parcialmente a la producción de ácido láctico y ácido acético por parte de la bacteria láctica debilitando la membrana citoplasmática de las bacterias patógenas y permitiendo la entrada de las bacteriocinas, que son péptidos de bajo peso molecular producidos por las bacterias lácticas. Las bacteriocinas perforan la membrana celular de las bacterias patógenas causando su rompimiento o lisis.

En el grupo de investigación GICMOA, recientemente se han llevado a cabo experimentos en los que se ha podido constatar que la administración de la bacteria *Bacillus subtilis* (1×10^7 UFC/ml), aislada de sedimentos marinos en el Caribe colombiano, con Rotirich® una mezcla comercial de microalgas y levaduras liofilizadas, incrementa significativamente el número de rotíferos y de hembras ovadas en cultivos auxiliares, además de disminuir el recuento de bacterias patógenas del género *Vibrio* en cultivo, en comparación con otros tratamientos de Rotirich® o levaduras solas (Murillo y Villamil 2011: 1).

Otras investigaciones han descrito que la microbiota mayoritaria aislada del cultivo de rotíferos está constituida principalmente por bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Moraxella* y *Flavobacterium* (Miyakawa y Muroga, 1998: 237). La aplicación de técnicas basadas en el estudio del 16S rDNA, señalan como géneros dominantes a *Marinomonas* y *Pseudoalteromonas* (Rombaut *et al.*, 2001: 237). El número de bacterias encontradas en el interior de los rotíferos está estrechamente relacionado con la disponibilidad de bacterias en el agua. De acuerdo con Korstad *et al.* (1989: 51), la tasa de filtración del rotífero *B. plicatilis* está directamente relacionada con la concentración de alimento disponible, así como con el estado fisiológico del animal. En general, la incubación de los rotíferos con LAB puede favorecer el establecimiento de una microbiota sana ya que se reemplazan bacterias oportunistas y potencialmente patógenas, que se desarrollan rápidamente en el agua, por otras bacterias que no son patógenas para las larvas de peces

(Skjermo y Vadstein, 1999: 333). Gatesoupe (2008: 107) encontró una disminución de bacterias vibronáceas en rotíferos tratados con un suplemento comercial de la bacteria láctica *Lactobacillus plantarum* y con esporas de *Bacillus*. El autor también describió una importante capacidad de *L. plantarum* para inhibir el crecimiento de la bacteria patógena *Aeromonas salmonicida*.

Actualmente, el grupo de investigación GICMOA estudia el efecto de la adición de cepas seleccionadas de bacterias lácticas *Bacillus* y *Lactobacillus* como promotoras de crecimiento de rotíferos cultivados y como controladores de altos niveles de bacterias consideradas oportunistas y patógenas.

Limitaciones metodológicas de la aplicación de probióticos

Hoy en día, a pesar de las diversas publicaciones que demuestran la eficiencia de varios aislados bacterianos, se realizan cuestionamientos sobre los efectos reales que se obtienen en los cultivos a nivel comercial. Entre las razones que pueden explicar las variaciones en la efectividad de estos tratamientos están la capacidad de sobrevivencia de las bacterias seleccionadas en los sistemas de cultivo y en el tracto gastrointestinal de los organismos cultivados ya que muchas de las bacterias propuestas como posibles probióticos tienen origen terrestre. En estos casos, la administración repetitiva es indispensable para alcanzar los efectos deseados, pero surgen entonces otros factores críticos, el tiempo de administración y la dosis, ya que se ha demostrado que existen valores óptimos que dependen de la especie, talla y fase de vida. Hay evidencia experimental que demuestra que dosis bajas pueden no tener efecto, mientras que dosis altas pueden incluso inhibir mecanismos de defensa inespecíficos (Villamil et al., 2002: 1318; 2003: 43). Es entonces necesario realizar investigaciones que conduzcan a la generación de probióticos que hayan sido aislados de las propias especies cultivadas, para que tengan una ventaja competitiva que les permita excluir bacterias oportunistas potencialmente patógenas.

Es importante también tener en cuenta que los mecanismos de virulencia de la gama de bacterias que afectan a los organismos marinos cultivados son diferentes. La variación en las vías de entrada, en la presencia de sideróforos, toxinas, hemolisinas u otros compuestos, pueden alterar significativamente los resultados de un tratamiento con probióticos. De tal manera, los probióticos pueden resultar efectivos en algunos casos de infección, mientras que en otros no. Se recomienda

entonces que no solo se usen probióticos como una única estrategia alternativa al uso de antibióticos, sino que también se contemple la implementación de técnicas complementarias para la prevención y el manejo de enfermedades en cultivo.

El fortalecimiento de la industria acuícola en Colombia requiere de un gran esfuerzo de los investigadores, entidades científicas y académicas así como de empresarios de la industria acuícola nacional, para desarrollar un trabajo conjunto e inter-disciplinario con el fin de evaluar la viabilidad económica y científica de las nuevas propuestas con base en estudios realizados a escala experimental y piloto.

Referencias

- ABOU-ELELA, Gehan M.; EL-SERSY, Nermeen A.; EL-SHENAWY, Mohamed A.; ABD-ELNABI, Hanan e IBRAHIM, Hassan A.H. «Biocontrol of *Vibrio fluvialis* in aquaculture by mangrove (*Avicennia marina*) seeds extracts». En: *Research Journal of Microbiology*, 4 (1): 38-48.
- ALDERMAN, D.J. y HASTINGS, T.S. 1998. «Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance-potential for consumer risks». En: *International Journal of Food Science & Technology*, 33: 139-155.
- BARROW, P.A. y SOOTHILL, J.S. 1997. «Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed assessment of potential». En: *Trends in microbiology*, 5: 268-271.
- BROMLEY, P.J. y HOWELL, B.R. 1985. «Factors influencing the survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L., during the change from live to compound feeds». En: *Aquaculture*, 31: 31-40.
- CASTELLANOS, E.; GARZA, G. y MARAÑÓN, S. 1999. *Aislamiento caracterización, biología y cultivo del rotífero *Brachionus plicatus* (O.F Müller)*. México D.F., Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco. 113 pp.
- COSTA, P.; VAZ-PIRES, P. y BERNARDO, F. 2008. «Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated in wastewater and sludge from poultry slaughterhouse wastewater plants». En: *Journal of Environmental Health*, 70: 40-45.
- DANTAS, G.; SOMMER, M.O.A.; OLUWASEGUN, R.D. y CHURCH, G.M. 2008. «Bacteria subsisting on antibiotics». En: *Science*, 320: 100-103.
- DAVISON, J. 1999. «Genetic exchange between bacteria in the environment». En: *Plasmid*, 42: 73-91.

- DEFOIRDT, T.; BOON, N.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE W. y BOSSIER, P. 2007. «**Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example**». En: *Trends in Biotechnology*, 25 (10): 472-479.
- DEFOIRDT, T.; BOON, N.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE W. y BOSSIER, P. 2009. «**Short-chain fatty acids and poly-beta-hydroxyalkanoates: Biocontrol agents for a sustainable animal production**». En: *Biotechnology Advances*, 27 (6): 680-685.
- DIREKBUSARAKOM, S.; YOSHIMIZU, M.; EZURA, Y.; RUANGPAN, L. y DAYANADOL, Y. 1998. «*Vibrio* spp. the dominant flora in shrimp hatchery against some fish pathogenic viruses». En: *Journal of Marine Biotechnology*, 6: 266-267.
- DRILLET, G.; RABARIMANANTSOA, T.; FROUËL, S.; LAMSON, J.S.; CHRISTENSEN, A.M.; KIM-TIAM, S. y HANSEN, B.W. 2011. «**Do inactivated microbial preparations improve life history traits of the copepod *Acartia tonsa*?**». En: *Marine Biotechnology*, Oct., 13 (5): 831-6. EPUB 2011, Jan 7.
- FAO. 2007. *The State of world fisheries and aquaculture*. Rome, Viale delle Terme di Caracalla, FAO. 162 pp.
- GATESOUBE, F.J. 2008. «**Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments**», Review. En: *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 14 (1-3): 107-14.
- GOLDSCHMIDT-CLERMONT, E.; HOCHWARTNER, O., DEMARTA, A., CAMINADA, A.P. y FREY, J. 2009. «**Outbreaks of an ulcerative and haemorrhagic disease in Arctic char *Salvelinus alpinus* caused by *Aeromonas salmonicida* subsp. *smithia***». En: *Diseases of Aquatic Organisms*, 7, 86 (1): 81-86.
- GUANGXING, Liu y DONGUI, Xu. 2009. «Effects of Calanoid Copepod *Schmackeria poplesia* as a Live Food on the Growth, Survival and Fatty Acid Composition of Larvae and Juveniles of Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*». En: *Oceanic and Coastal Sea Research*, 8: 359-365.
- HARZEVILI, A.R.S.; VAN DUFFEL, H.; DHERT, P.; SWINGS, J. y SOGERLOOS, P. 1998. «Use of a potential probiotic *Lactococcus lactis* AR21 strain for the enhancement of growth in the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller)». En: *Aquaculture Research*, 29: 411-417.
- HERNÁNDEZ OCAMPO, D. 2002. «Tasa de Crecimiento del Pez Ángel *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae) en condiciones de laboratorio». En: *Acta Universitaria*, Universidad de Guanajuato, 12 (002): 28-33.
- HOA, P.T.P.; MANAGAKI, S.; NAKADA, N.; TAKADA, H.; SHIMIZU, A.; ANH, D.H.; VIET, P.H. y SUZUKI, S. 2011. «Antibiotic contamination and occurrence of antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments of northern Vietnam». En: *Science of The Total Environment*, 409 (15): 2894-2901.
- HUYS, G.; BARTIE, K.; CNOCKAERT, M.; OANH, D.; THANH, P.N., SOMSIRI, T.; CHINABUT, S.; YUSOFF, F.; SHARIFF, M.; GIACOMINI, M.; TEALE, A. y SWINGS, J. 2007. «Biodiversity of chloramphenicol-resistant

mesophilic heterotrophs from Southeast Asian aquaculture environments». En: *Research in Microbiology*, 158: 228-235.

INFANTE VILLAMIL, S.; VILLAMIL, L.; ROZO, G.; ROJAS, J. y MACÍAS, M. 2011. «Suplementación en la dieta de *Oreochromis niloticus* con Kappa carragenina (Kc) extraída de la macroalga *Hypnea musciformis*». Ponencia en: *IX Congreso Colombiano de Ictiología y II Encuentro Suramericano de Ictiólogos*. Ibagué (Tolima-Colombia).

KARYN, N.; JOHNSON, C.W.; VAN HULTENA, L.; ANDREW, C. y BARNESA, B. 2008. «“Vaccination” of shrimp against viral pathogens: Phenomenology and underlying mechanisms», Review. En: *Vaccine*, 4885–4892.

KORSTAD, J.; VADSTEIN, O. y OLSEN, Y. 1989. «Feeding Kinetics of *Brachinus plicatilis* fed *Isochrysis galbana*». En: *Hydrobiologia*, 186/187: 51-57.

KUNTTU, H.M.; VALTONEN, E.T.; SUOMALAINEN, L.R., VIELMA, J. Y JOKINEN, I. E. 2009. «The efficacy of two immunostimulants against *Flavobacterium columnare* infection in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)». En: *Fish and Shellfish Immunology*, 26 (6): 850-857.

LAPATRA, S.E.; PLANT, K.P.; ALCORN, S.; OSTLAND, V. Y WINTON, J. 2010. «An experimental vaccine against *Aeromonas hydrophila* can induce protection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)». En: *Journal of Fish Diseases*, 33 (2): 143-51.

LE, T.X. Y MUNEKAGE, Y. 2004. «Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Viet Nam». En: *Marine Pollution Bulletin*, 49: 922-929.

LEE, C.S. 2003. «Biotechnological advances in finfish hatchery production: a review». En: *Aquaculture*, 227: 439-458.

LEVENS, P. Y SORGELOOS, P. 1996. *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Rome, Viale delle Terme di Caracalla, FAO. 61-97 pp.

LÓPEZ, S.R.; NEGRETE, R.P. Y ROMERO, J.J. 2007. «Comprobación *in vivo* de la capacidad antibacterial de *Oedogonium Capillare* contra *Vibrio fluvialis* en pez dorado *Carassius auratus*». En: *Veterinaria México*, 38 (4): 439-454.

MAGNADOTTIR, B.; LANGE, S.; GUDMUNSDOTTIR, S.; BØGWALD J. y DALMO, R.A. 2005. «Ontogeny of humoral immune parameters in fish». En: *Fish and Shellfish Immunology*, 19 (5): 429-39.

MARCUS, N. 2005. «Calanoid Copepods, Resting Eggs and Aquaculture». En: LEE, Cheng-Cheng; O'BRYEN, P. y MARCUS, N. *Copepods in aquaculture*. Hoboken (Estados Unidos), Blackwell Publishing. 285 pp.

- MILLANO, A.; BARRIENTOS, H.; GÓMEZ, C.; TOMOVA, A.; BUSCHMANN, A.; DÖLZ, H. y CABELLO, F. 2011. «Uso inadecuado y excesivo de antibióticos: Salud pública y salmonicultura en Chile». En: *Revista Médica de Chile*, 39: 107-118.
- MIYAKAWA, M. y MUROGA, K. 1998. «Bacterial flora of cultured rotifer *Brachionus plicatilis*». En: *Suisan Zoshoku*, 35: 237-243.
- MULERO, I.; SEPULCRE, P.; FUENTES, I.; GARCÍA-ALCÁZAR, A.; MESEGUER, J.; GARCÍA-AYALA, A. y MULERO, V. 2008. «Vaccination of larvae of the bony fish gilthead seabream reveals a lack of correlation between lymphocyte development and adaptive immunocompetence». En: *Molecular Immunology*, 45: 2981-2989.
- MUNRO, P.D.; BARBOUR, A. y BIRBECK, T.H. 1994. «Comparison of the gut bacterial flora of start-feeding larval turbot reared under different conditions». En: *Journal of Applied Bacteriology*, 77: 500-566.
- MURILLO, I. y VILLAMIL, L. 2011. «*Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* used as probiotics in rotifer (*Brachionus plicatilis*) cultures». En: *Journal of Aquaculture, Research and Development*, S1: 007. DOI: 10.4172/2155-9546.S1-007
- NAKAI, T. 2010. «Application of Bacteriophages for Control of Infectious diseases in aquaculture». En: SABOUR, Parvis M. y GRIFFITHS, Mansel W. 2010. *Bacteriophages in the Control of food and Waterborne pathogens*. Washington D.C., American Society for Microbiology. 366 pp.
- NEGRETE REDONDO, P.; MONROY DOSTA, C. y ROMERO JARERO, J. 2008. «Evaluación de la calidad bacteriológica del alimento vivo (*Artemia*, *Daphnia*, *Tenebrio* y *Tubifex*) para peces en los sitios de su recolección, producción y venta». En: *Veterinaria México*, 39 (3): 255-268.
- NEGRETE REDONDO, P.; ROMERO JARERO, J.; CRUZ GARCÍA, S. y GUZMÁN LÓPEZ, E. 2010. «*Oedogonium capillare* (Linnaeus) (Kuetzing, 1845) como estrategia para purificar alimento vivo *Tubifex tubifex* (Müller, 1974) para peces». En: *Veterinaria México*, 41 (3): 201-210.
- NEGRETE, REDONDO, P.; ROMERO JARERO, J.; ARREDONDO LÓPEZ, S.R. y FIGUEROA, G. 2006. «Análisis *in vitro* de la actividad antibacterial *Oedogonium capillare* contra bacterias patógenas de peces» En: *Veterinaria México*, 37: 209-221.
- NELLEN, W. 1986. «Live animal food for larval rearing in aquaculture: non-*Artemia* organisms». En: BILIO, M.; ROSENTHAL, H., y SINDERMAN, C.J., editores. *Realism in Aquaculture: Achievements, Constraints, Perspectives*. Bredene (Belgium), European Aquaculture Society, 215-250.
- NOH, S.H.; HAN, K.; WON, T.H. y CHOI, Y.J. 1994. «Effect of antibiotics, enzyme, yeast culture and probiotics on the growth performance of Israeli carp». *Korean Journal of Animal Science*, 36: 480-486.

ØVERGÅRD, A.C.; FIKSDAL, I.U.; NERLAND, A.H. y PATEL, S. 2011. «Expression of T-cell markers during Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) ontogenesis». En: *Developmental & Comparative Immunology*, 35 (2): 203-213.

PRASAD, Y.; ARPANA; KUMAR, D. y SHARMA, A.K. 2011. «Lytic bacteriophages specific to *Flavobacterium columnare* rescue catfish, *Clarias batrachus* (Linn.) from columnaris disease». En: *Journal of Environmental Biology*, 32 (2): 161-168.

REITAN, K.I.; RAINUZZO, J.R.; ØIE, G. y OLSEN, Y. 1993. «Nutritional effects of algal addition in first-feeding of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae». En: *Aquaculture*, 118: 257-275.

RINGØ, E. 1999. «Does *Carnobacterium divergens* isolated from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., colonize the gut of early developing turbot, *Scophthalmus maximus* L., larvae?» En: *Aquaculture Research*, 30: 229-232.

ROBERTSON, P.A.W.; O'DOWD, C.; BURRELLS, C.; WILLIAMS, P. y AUSTIN, B. 2000. «Use of *Carnobacterium* sp. a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)». En: *Aquaculture*, 185: 235-243.

ROENNESTAD, I.; THORSEN, A. y FINN, R.N. 1999. «Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids». En: *Aquaculture*, 177: 1201-1216.

ROMBAUT, G.; SUANTIKA, G.; BOON, N.; MAERTENS, S.; DHERT, P.; TOP, E.; SOGERLOOS, P. y VERESTRATE, W. 2001. «Monitoring of the evolving diversity of the microbial community present in rotifer cultures» En: *Aquaculture*, 198: 237-252.

ROZAS, M. y ASENCIO, G. 2007. «Evaluación de la situación epidemiológica de la caligiasis en Chile: hacia una estrategia de control efectiva». En: *Salmo Ciencia*, 2: 43-59.

SALVESEN, I. y VADSTEIN, O. 1995. «Surface disaffection of eggs from marine fish: Evaluation of four chemicals». En: *Aquaculture International*, 3: 155-177.

SANTOS, J.; LÓPEZ-DÍAZ, T.; GARCÍA-FERNÁNDEZ M. y GARCÍA-OTERO, A. 1996. «Effect of lactic starter culture on the growth and protease activity of *Aeromonas hydrophila*». En: *Journal of Applied Bacteriology*, 80: 13-18.

SHIVU, M.M.; RAJEEVA, B.C.; GIRISHA, S.K.; KARUNASAGAR, I.; KROHNE, G. y KARUNASAGAR, Y.I. 2007. «Molecular characterization of *Vibrio harveyi* bacteriophages isolated from aquaculture environments along the coast of India». En: *Environmental Microbiology*, 9 (2): 322-331.

SHOEMAKER, C.; KLESIOUS, P.; EVANS, J. y ARIAS, C. 2009. «Use of Modified Live Vaccines in aquaculture». En: *Journal of the World Aquaculture Society*, 40 (5): 573-585.

SKJERMØ, J. y VADSTEIN, O. 1999. «Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine fish larvae». En: *Aquaculture*, 177: 333-343.

- SKJERMO, J.; SALVESEN, I.; ØIE, G.; OLSEN, Y. y VADSTEIN, O. 1997. «Microbially matured water: a technique for selection of a non-opportunistic bacterial flora in water that may improve performance of marine larvae». En: *Aquaculture International*, 5: 13-28.
- SMITH, P.; HINEY, M.P. y SAMUELSEN, B.D. 1994. «Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: A critical evaluation of method and meaning». En: *Annual Review Journal of Fish Diseases*, 4: 273-313.
- SORGELOOS, P.; DHERT, P. y CANDREVA, P. 2001. «Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture». En: *Aquaculture* 200: 147-159.
- SUMMERS, W.C. 2001. «Bacteriophage Therapy». En: *Annual Review of Microbiology*, 55: 437-451.
- TINH, N.T.; ASANKA GUNASEKARA, R.A.; BOON, N.; DIERCKENS, K.; SORGELOOS, P. y BOSSIER, P. 2007. «N-acyl homoserine lactone-degrading microbial enrichment cultures isolated from *Penaeus vannamei* shrimp gut and their probiotic properties in *Brachionus plicatilis* cultures». En: *FEMS Microbiology Ecology*, 62 (1): 45-53.
- VADSTEIN, O. 1997. «The use of immunostimulation in marine larviculture: possibilities and challenges». En: *Aquaculture*, 155: 401-417.
- VÁZQUEZ, J.A.; DOCASAL, S.F.; MIRÓN, J.; GONZÁLEZ, M.P. y MURADO, M.A. 2006. «Proteases production by two *Vibrio* species on residuals marine media». En: *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33 (8): 661-668.
- VERSCHUERER, L.; ROMBAUT, G.; HUYS, G.; DHONT, J.; SOGERLOOS, P. y VERESTRATE, W. 1999. «Microbial control through pre-emptive colonization by selected bacterial strains». En: *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 2527-2533.
- VILLAMIL L. y MARTÍNEZ-SILVA, M.A. 2009. «Probióticos como herramienta biotecnológica en el cultivo de camarón», Reseña. En: *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 38 (2): 151-169.
- VILLAMIL, L y NOVOA, B. 2009. «Probiotics in aquaculture». En: *PÉREZ-GUERRA, N. Biotechnology and applied Biochemistry, Review Book*. Trivandrum (India), Transworld Research Network. 91-118.
- VILLAMIL, L.; FIGUERAS, A.; PLANAS, M. y NOVOA, B. 2003. «Control of *Vibrio alginolyticus* in *Artemia* culture by treatment with bacterial probiotics». En: *Aquaculture*, 219: 43-56.
- VILLAMIL, L.; TAFALLA, C.; FIGUERAS, A. y NOVOA, B. 2002. «Evaluation of immunomodulatory effects of some lactic acid bacteria in turbot (*Scophthalmus maximus*)». En: *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9 (6): 1318-1323.

WALAKIRA, J.K.; CARRIAS, A.A.; HOSSIAN, M.J.; JONES, E.; TERHUNE, J.S. y M.R., LILES. 2008. «Identification and characterization of bacteriophages specific to the catfish pathogen, *Edwardsiella ictaluri*». En: *Journal of Applied Biotechnology*, 105 (6): 2133-2142.

WANG, X.; LI, H.; ZHANG, X.; LI, Y.; JI, Y.W. y Xu, H. 2000. «Microbial flora in the digestive tract of adult penaeid shrimp (*Penaeus chinensis*)». En: *Journal of Ocean University of Qingdao*, 30: 493-498.

ZHUKOVA, N.; IMBS, A. y Yi, L. 1998. «Diet-induced changes in lipid and fatty acid composition of *Artemia salina*». En: *Comparative Biochemistry and Biology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 120: 499-506.

ZOU, S.; XU, W.; ZHANG, R.; TANG, J.; CHEN, Y. y ZHANG, G. 2011. «Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: Impacts of river discharge and aquaculture activities». En: *Environmental Pollution*, 159 (10): 2913-2920.