

## Crecimiento y supervivencia del camarón *Penaeus vannamei* con aplicación de actinomicetos probióticos y homeopatía

### Growth and survival of the shrimp *Penaeus vannamei* with application of probiotic actinomycetes and homeopathy

Milagro García-Bernal<sup>1,2</sup>, Ricardo Medina-Marrero<sup>1</sup>, Ángel Isidro Campa-Córdova<sup>2</sup>, Dariel Tovar-Ramírez<sup>2</sup>, Delfino Barajas<sup>2</sup>, Pablo Ormart-Castro<sup>2</sup>, José Manuel Mazón-Suástegui<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5½. Santa Clara, Villa Clara, Cuba CP54830.

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR). Av. I.P.N. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur, La Paz, B.C.S., México CP23096.

Correspondencia: José Manuel Mazón-Suástegui  E-mail: [jmazon04@cibnor.mx](mailto:jmazon04@cibnor.mx)

Artículo original | Original article

#### Palabras clave

Homeopatía acuícola  
Probióticos  
*Streptomyces* spp.  
*Vibrio* spp.  
*Penaeus vannamei*  
Crecimiento  
Supervivencia  
Calidad del agua

**RESUMEN** | Se evaluó el efecto de bacterias probióticas y medicamentos homeopáticos sobre el crecimiento, la supervivencia y la calidad del agua en el cultivo de juveniles del camarón blanco del pacífico *Penaeus vannamei*. Cuatro grupos experimentales fueron tratados durante 30 días con dos cepas probióticas de *Streptomyces* spp. RL8 (T1) y N7 (T2), con productos homeopáticos desarrollados en CIBNOR a partir de bacterias patógenas [ViP-7C+VIA-7C] (T3), con medicamentos homeopáticos para humanos [PhA-7C+SIT-7C] (T4) y con agua destilada como grupo control (T5). Los camarones tratados con T2, T3 y T4 mostraron una ganancia significativamente mayor en peso ( $P<0.05$ ) con respecto a T5. El peso diario ganado fue significativamente mayor ( $P<0.05$ ) en los camarones tratados con T2 y T3, con respecto a T5. Se registraron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) en la tasa de supervivencia de camarones tratados con T1, T2 y T3, con respecto al control (T5). La densidad de *Vibrio* spp. en el agua de cultivo fue significativamente menor ( $P<0.05$ ) en T1, T3 y T4, que en T5. Tomando como referencia a T5, en todos los grupos experimentales se observó una reducción significativa ( $P<0.05$ ) de vibrios en el hepatopáncreas. Como contraparte, la abundancia de bacterias heterótrofas marinas totales en el hepatopáncreas en todos los grupos experimentales fue significativamente mayor ( $P<0.05$ ) con respecto al control (T5). Estos resultados demuestran que la aplicación de actinomicetos probióticos y de medicamentos homeopáticos tiene potencial como alternativa al uso y abuso de antibióticos costosos y potencialmente nocivos, ya que además de mantener buena calidad del agua promueven el crecimiento y la supervivencia de *P. vannamei*, son bio-seguros y podrían ser económicamente competitivos para su aplicación en el cultivo comercial de la especie.

#### Keywords

Aquacultural  
Homeopathy  
Probiotic  
*Streptomyces* spp.  
*Vibrio* spp.  
*Penaeus vannamei*  
Growth  
Survival  
Water quality

**ABSTRACT** | The effect of probiotic bacteria and homeopathic medicines on growth, survival and water quality in the culture of juveniles of White Pacific shrimp *Penaeus vannamei* was evaluated. Four experimental groups were treated for 30 days with two probiotic strains of *Streptomyces* spp. RL8 (T1) and N7 (T2), homeopathic products developed in CIBNOR from pathogenic bacteria [ViP-7C + VIA-7C] (T3), homeopathic medicines for humans [PhA-7C + SIT-7C] (T4) and distilled water as a control group (T5). Shrimp treated with T2, T3 and T4 showed a significantly greater weight gain ( $P<0.05$ ) compared to the T5 control. The average daily weight gain was significantly higher ( $P<0.05$ ) in shrimp treated with T2 and T3, compared to T5. With respect to the survival rate, there were significant differences ( $P<0.05$ ) between the treated groups (T1, T2 and T3) and the control group (T5). The density of *Vibrio* spp. in the culture water was significantly lower ( $P<0.05$ ) in T1, T3 and T4 than in T5. With reference to T5, a significant reduction ( $P<0.05$ ) of vibrios in the hepatopancreas was observed in all experimental groups. As a counterpart, the abundance of total marine heterotrophic bacteria in the hepatopancreas in all experimental groups was significantly higher ( $P<0.05$ ) compared to the control. These results demonstrate that the application of probiotic actinomycetes and homeopathic medicines has potential as an alternative to the use and abuse of expensive and potentially harmful antibiotics, since in addition to maintaining good water quality they promote growth and survival of *P. vannamei*, they are bio-safe and could be economically competitive for application in the commercial cultivation of the species.

## INTRODUCCIÓN

*Penaeus vannamei* (Boone, 1931), también conocido como camarón blanco del Pacífico, es un importante producto de la acuicultura con una producción de 3,69 millones de toneladas valorada en un ingreso de 18 mil millones de dólares (FAO, 2016). Su cultivo tiene gran importancia social, económica y ambiental. En los últimos años, las enfermedades virales y bacterianas, así como problemas ambientales y de calidad del agua, han afectado a las granjas camaroneras causando grandes pérdidas económicas (Hernández-Llamas *et al.*, 2016).

Los antibióticos han sido usados en el cultivo de organismos acuáticos como agentes terapéuticos y promotores del crecimiento, para incrementar su producción. Sin embargo, el uso excesivo de estos compuestos ha favorecido el incremento de la resistencia natural de muchas bacterias patógenas, a diversos antibióticos y a otros agentes quimioterapéuticos (Decamp *et al.*, 2008). La acumulación de estos productos, tanto en los cuerpos de aguas receptores como en los tejidos de los camarones, puede ser potencialmente peligrosa para los consumidores y para el medio ambiente (Ramachandran, 2017).

La aplicación de probióticos se considera una estrategia eficaz para la acuicultura, en virtud de que son una de las alternativas a los antibióticos (Verschuere *et al.*, 2000; Akhter *et al.*, 2015). Se ha demostrado que pueden inhibir a los patógenos (Aly *et al.*, 2008), así como mejorar crecimiento y estado de salud animal, y la calidad del agua y sedimento en los estanques de cultivo (Liu *et al.*, 2010; Zorriehzahra *et al.*, 2016). Los actinomicetos son microorganismos Gram positivos reconocidos por su potencial probiótico (Das *et al.*, 2008). Entre las características distintivas que los hacen ideales para este fin, destaca que son organismos saprófitos que contribuyen al reciclaje de biopolímeros complejos y en consecuencia, pueden contribuir a la mineralización y al ciclo de nutrientes en la acuicultura; no son patógenos para animales, plantas o peces; producen gran variedad de exoenzimas que pueden mejorar la digestibilidad y el aprovechamiento del alimento en diversas especies acuícolas y son además productores de metabolitos secundarios por excelencia, por lo que pueden inhibir el crecimiento de patógenos de interés en la acuicultura (Das *et al.*, 2010; Augustine *et al.*, 2015).

Otra estrategia igualmente promisorio para la acuicultura es la aplicación de medicamentos homeopáticos, ya que esta terapia médica ha demostrado ser exitosa para promover el crecimiento, elevar la supervivencia y controlar enfermedades en el cultivo de animales acuáticos y terrestres, e incluso en vegetales (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018a,b; 2019a,b). La medicina homeopática se basa en el principio de similitud y utiliza altas diluciones de sustancias derivadas de plantas, minerales o animales (Khuda-Bukhsh y Pathak, 2008), cuyo efecto biológico ha sido asociado a las nanopartículas que se producen durante esa dilución serial (Bell y Koithan, 2012). Los medicamentos homeopáticos son reconocidos en diversos países, incluido México, donde la Secretaría de Salud autoriza su aplicación en humanos (Secretaría de Salud, 2015) y así se diferencian de otros productos como hierbas para infusión o complementos herbales o dietéticos, que no son medicamentos. Los medicamentos homeopáticos con registro oficial y otras sustancias bioactivas experimentalmente homeopatizadas de conformidad con la farmacopea homeopática correspondiente, pueden estimular el sistema inmune y desencadenar diversas respuestas orgánicas que pueden reducir el estrés en los organismos cultivados, principalmente en sistemas intensivos e hiperintensivos, lo cual permite disminuir la aplicación de agentes quimioterapéuticos, desinfectantes y/o antibióticos, evitando riesgos para los animales cultivados y para los consumidores del producto cosechado (Mazón-Suástegui *et al.*, 2017; 2018a,b; 2019a).

Por lo antes expuesto, el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto probiótico de las cepas RL8 y N7 de actinomicetos del género *Streptomyces* aislados a partir de sedimentos marinos de Cuba, y medicamentos homeopáticos comerciales y experimentales, sobre el crecimiento y supervivencia de juveniles de camarón blanco *P. vannamei*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Organismos y mantenimiento

Se utilizaron juveniles de camarón blanco *P. vannamei*, procedentes del laboratorio camaronícola comercial de la empresa Acuicultura Mahr, La Paz, México. Los mismos se aclimataron durante 7 días en tanques de fibra de vidrio de 1 500 L en el laboratorio de moluscos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), con agua de mar filtrada a 1  $\mu\text{m}$  y esterilizada con luz ultravioleta, salinidad de 37 ups, aireación continua y temperatura de  $29\pm 1$  °C. Los camarones se alimentaron a saciedad tres veces al día con una dieta balanceada comercial (Purina<sup>®</sup>, Ciudad Obregón, México, 35% de proteína).

### Probióticos y medicinas homeopáticas

Se utilizaron las cepas de *Streptomyces* spp. RL8 y N7 con probada acción probiótica (García-Bernal *et al.*, 2015, 2017, 2018), que fueron aisladas y caracterizadas conjuntamente en el Centro de Bioactivos Químicos (CBQ) de la Universidad Central de Las Villas, Cuba (UCLV) y el CIBNOR. Se utilizaron también los productos homeopáticos experimentales ViP-7C y ViA 7C, desarrollados en el CIBNOR a partir de lisados de bacterias patógenas (*Vibrio parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*), que afectan de manera notable a los sistemas de acuicultura comercial, y los medicamentos homeopáticos con registro oficial en la Secretaría de Salud de México para uso en humanos *Phosphoricum acid* (PhA-6C) y *Silicea terra* (SiT-6C). Estos medicamentos comerciales son elaborados por laboratorio especializado (Similia<sup>®</sup>); se comercializan en dilución alcohólica (87 °GL) y fueron adquiridos en Farmacia Homeopática Nacional (FHN<sup>®</sup>, CDMX). Como tratamientos homeopáticos experimentales, se aplicaron estos medicamentos en 7<sup>a</sup> dilución centesimal (7C). Para evitar potenciales efectos colaterales del etanol, los tratamientos homeopáticos se prepararon en el CIBNOR, mediante la dilución centesimal (1:99) en agua destilada, de los medicamentos 6C, aplicando los principios de la “Farmacopea Homeopática de los Estados Unidos Mexicanos” (Secretaría de Salud, 2015), vigente en el marco de la ley general de salud de México.

### Organismos y diseño experimental

Los camarones con un peso y talla inicial de  $0,18 \pm 0,06$  g y  $2,95\pm 0,41$  cm (medias  $\pm$  DS) respectivamente, se distribuyeron al azar en tanques de fibra de vidrio con una capacidad de 120 L (50 camarones / tanque) que contenían agua de mar filtrada a 5  $\mu\text{m}$  y esterilizada con radiación UV, a  $29 \pm 1$  °C y con aireación constante. Cuatro grupos experimentales con tres réplicas cada uno fueron utilizados en el experimento como sigue: T1 (*Streptomyces* sp. RL8), T2 (*Streptomyces* sp. N7), T3 (ViP 7C+ViA 7C), T4 (PhA 7C+SiT 7C) y (T5) como grupo control (agua destilada). Las suspensiones de probióticos y los tratamientos homeopáticos se agregaron por aspersion al alimento, el cual fue secado a la sombra a temperatura de  $25 \pm 0,5$  °C y almacenado a 4 °C. Se preparó solamente la cantidad a utilizar en un tiempo máximo de una semana.

En el caso de los probióticos se utilizó una concentración final de  $1 \times 10^8$  UFC g<sup>-1</sup> según García-Bernal *et al.*, (2017, 2018). Los tratamientos homeopáticos se prepararon según Mazón-Suástegui *et al.*, (2019 b). Los camarones se alimentaron a saciedad tres veces al día con el alimento balanceado antes descrito, adicionado con los tratamientos probióticos u homeopáticos (García-Bernal *et al.*, 2017, 2018; Mazón-Suástegui *et al.*, 2018 b). Al finalizar el experimento (30 días), el incremento de talla (IT), la ganancia de peso (GP), el peso diario ganado (PDG) y la tasa de supervivencia (S) de los diferentes grupos experimentales que recibieron dichos tratamientos, se evaluaron de acuerdo con el método descrito por Félix y Sudharsan, (2004) y Venkat *et al.*, (2004).

IT (Incremento de la Talla) = Talla final (cm) - Talla inicial (cm)

GP (Ganancia de Peso) = Peso final (g) - peso inicial (g)

PDG (Peso diario ganando) = (Peso final - peso inicial) / días experimentación

S (Supervivencia %) = (# organismos vivos / # total organismos) \* 100

## Evaluación microbiológica

Se tomaron muestras del agua de los cultivos y de hepatopáncreas de los grupos tratados y del grupo control, para el conteo de bacterias heterótrofas totales y de *Vibrio* spp. en agua y en hepatopáncreas de los camarones. Se usó el medio agar marino 2216 (Difco) para bacterias heterótrofas y agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS, Difco) para el conteo de *Vibrio* spp. Después de haber desinfectado cada camarón con etanol al 70 %, se extrajo el hepatopáncreas con un bisturí estéril y se homogenizó en solución salina estéril. Para todos los grupos experimentales y sus tres réplicas, se realizaron diluciones decimales del homogenizado correspondiente y se extendieron 100  $\mu$ L sobre los medios de cultivos descritos. Las placas se incubaron a 35 °C durante 24-48 h. Igual procedimiento se aplicó para evaluar la calidad bacteriológica el agua de cultivo de cada tratamiento y sus réplicas.

## Análisis estadístico

Los datos generados, relativos a crecimiento y supervivencia de los camarones y a los conteos de bacterias en el agua de cultivo y en hepatopáncreas, se procesaron mediante análisis de varianza según diseño completamente aleatorizado. Antes de aplicar el ANOVA se procedió a verificar la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro Wilk y para la homogeneidad de la varianza se utilizó la prueba de Levene (Sokal y Rohlf, 1981). Los datos relativos a porcentaje de supervivencia fueron transformados a  $\arcsen\sqrt{\%}$ , para garantizar las condiciones de normalidad. Para detectar diferencias significativas en los valores de crecimiento, supervivencia y conteo de microorganismos en función de los tratamientos suministrados y los grupos control, se aplicó la prueba de rangos múltiples de Tukey. Para todos los análisis efectuados, el nivel de significación fue de  $P < 0,05$ . Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa estadístico SPSS versión 21 para Windows (SPSS Inc., Chicago IL).

## RESULTADOS

### Crecimiento y supervivencia

En la tabla 1 se muestran los parámetros de crecimiento (IT, GP, PDG y S) de los camarones después de la administración de los tratamientos probióticos y homeopáticos incorporados en el alimento, durante un periodo de 30 días. El grupo T2 mostró diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en incremento de la talla con relación a los demás grupos tratados y al grupo control. Con respecto a la GP hubo diferencias significativas en los grupos T2, T3 y T4 comparados con los grupos T1 y el grupo control. En lo que respecta al PDG hubo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en los grupos T2 y T4 con relación al grupo control (Tabla 1). Se obtuvo una tasa de supervivencia entre 95,33 y 99,33 %, y hubo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los grupos tratados T1, T2 y T3, con respecto al grupo control (Tabla 1).

**Tabla 1.** Efecto de actinomicetos probióticos (T1, T2) y medicamentos homeopáticos (T3, T4) en indicadores productivos del cultivo de camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei*.

Tratamientos	Parámetros productivos			
	IT (cm)	GP (g)	PDG (g day <sup>-1</sup> )	S (%)
T1	4,65±0,78b	2,64±0,49b	0,017±0,005bc	99,33±1,15a
T2	5,02±0,85a	2,91±0,61a	0,019±0,006ab	98,0±3,46a
T3	4,64±0,94b	2,82±0,60a	0,018±0,007bc	99,33±1,15a
T4	4,61±0,94b	2,92±0,65a	0,02±0,009a	97,33±2,30ab
T5 (Control)	4,77±0,91ab	2,56±0,56b	0,016±0,006c	95,33±1,15b

IT: incremento en talla, GP: ganancia en peso, PDG: peso diario ganado, S: tasa de supervivencia  
Valores expresados como media±desviación estándar; medias con diferentes letras en la columna difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

**Conteo de heterótrofos totales y *Vibrio* en agua y hepatopáncreas de *L. vannamei***

Tal como puede observarse en la tabla 2, el recuento de *Vibrio* en el agua de cultivo fue significativamente menor ( $P < 0,05$ ) en los camarones que recibieron los tratamientos T1, T3 y T4, comparados con el grupo control (T5). Con relación al conteo de bacterias heterótrofas marinas totales en el agua de cultivo, no se observaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los camarones de los grupos tratados con respecto al grupo control (T5). La cuenta bacteriana de *Vibrio* en hepatopáncreas fue significativamente menor ( $P < 0,05$ ) en los grupos T1, T2, T3 y T4, que en el grupo control (T5). En relación al conteo de bacterias heterótrofas totales en hepatopáncreas, se registraron diferencias significativas entre los grupos tratados y el grupo control (Tabla 2).

**Tabla 2.** Conteo de heterótrofos totales y vibrios en agua (UFC mL<sup>-1</sup>) y en hepatopáncreas (UFC g<sup>-1</sup>), durante la aplicación actinomicetos probióticos (T1, T2) y medicamentos homeopáticos (T3, T4), en juveniles de camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei*.

Tratamientos	Agua (log UFC mL <sup>-1</sup> )		Hepatopáncreas (log UFC g <sup>-1</sup> )	
	<i>Vibrio</i>	Heterótrofos	<i>Vibrio</i>	Heterótrofos
T1	3,38±0,19b	5,53±0,04a	1,93±0,40b	6,2±0,26a
T2	4,70±0,18ab	5,51±0,14a	2,43±0,35bc	6,30±0,10a
T3	3,18±0,66b	5,40±0,07a	1,73±0,30ac	6,33±0,02a
T4	3,35±0,05b	5,30±0,74a	1,36±0,23a	6,00±0,20 <sup>a</sup>
T5 (Control)	5,98±1,69a	5,51±0,13a	3,90±0,46d	3,56±0,05b

Valores expresados como media ± DS; medias con letras diferentes en las columnas son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

**DISCUSIÓN**

Los probióticos son una útil herramienta, aplicable en el control de enfermedades comunes en la acuicultura, en la promoción del crecimiento y en la mejora de la calidad del agua en los sistemas productivos (Kumar *et al.*, 2013). La influencia positiva del uso de probióticos en el crecimiento de los organismos acuáticos puede atribuirse a su capacidad para producir enzimas digestivas y vitaminas, descomponer componentes no digeribles, prevenir trastornos intestinales, así como regular de forma positiva la expresión de genes relacionados con el crecimiento (Liu *et al.*, 2017).

En varias investigaciones se ha demostrado que el género *Streptomyces* puede ser utilizado como probiótico en la acuicultura (Das *et al.*, 2010; Dharmaraj y Dhevendaran, 2010; Augustine *et al.*, 2015). You *et al.* (2007) informaron sobre la actividad potencial de *Streptomyces* marino contra las biopelículas producidas por *Vibrio* spp. Los actinomicetos sintetizan sideróforos y se sugiere que pueden reducir por competencia el crecimiento de vibrios patógenos en el medio acuático. Se cree que aquellos probióticos con capacidad para producir sideróforos superan a los patógenos, justamente al limitar la biodisponibilidad del hierro (Ahmed y Holmstrom, 2015), que es un elemento esencial para su crecimiento, así como para la formación de biofilms (Weinberg, 2004).

Por otra parte, los medicamentos homeopáticos han demostrado su efectividad desde la era antigua, tuvieron en su momento más eficacia que los medicamentos alopáticos convencionales, debido a la ausencia de efectos secundarios y residuos, además de que son mucho más económicos (Pinkus, 2009). La homeopatía se ha utilizado con éxito en la acuicultura (Mazón-Suástegui *et al.*, 2017; Merlini *et al.*, 2014) y tiene aplicabilidad para reducir el estrés asociado a una gradual y progresiva intensificación, que es habitual en los modernos sistemas de producción acuícola. Esta terapia médica ha sido ampliamente utilizada en la acuicultura de agua dulce, sobre todo en tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). Algunos autores como Valentim-Zabott *et al.* (2008); Siena *et al.* (2010) y Braccini *et al.*, (2013) han evaluado los complejos homeopáticos veterinarios Homeopatila<sup>®</sup> u Homeopatila RS<sup>®</sup>, y determinado sus efectos sobre la supervivencia, proporción sexual y características morfofuncionales en hígado y branquias de esta especie

de pez y concluyeron que estos complejos homeopáticos favorecen el metabolismo de los lípidos, reducen el estrés en los peces tratados, elevan su respuesta inmune e incrementan la supervivencia, lo cual redundan en una mayor productividad y rentabilidad económica del cultivo.

Los grupos T1 y T2 recibieron las cepas RL8 y N7 de *Streptomyces* spp., respectivamente. Estas cepas tienen la capacidad de producir enzimas extracelulares tales como proteasas, lipasas y amilasas (García-Bernal et al., 2015). Das et al. (2006) evaluaron el efecto probiótico de *Streptomyces* sp. sobre el crecimiento del camarón tigre *Penaeus monodon*. García-Bernal et al. (2017) demostraron que las cepas RL8 y N7 de *Streptomyces* spp. solas o combinadas con *Bacillus* y *Lactobacillus* mejoraron los parámetros de crecimiento del camarón blanco *L. vannamei*. En un estudio *in vitro* se informó que *Streptomyces rubrolavendulae* (M56) exhibió actividad antagonista contra cuatro especies de *Vibrio*, incluyendo *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* y *V. fluvialis*. A fin de confirmar los resultados *in vitro*, los bio granulados de M56 fueron evaluados en postlarvas de *P. monodon* y se redujo mortalidad, además de que disminuyó el *Vibrio* sp viable (Augustine et al., 2015). En el presente estudio, los tratamientos con *Streptomyces* spp. incrementaron crecimiento y supervivencia en juveniles de *P. vannamei*.

El tratamiento homeopático T3 fue desarrollado en el CIBNOR y está compuesto por una mezcla de *Vibrio parahaemolyticus* y *V. alginolyticus* (ViP 7C+VIA 7C). Los medicamentos homeopáticos preparados a partir de materiales biológicos se conocen como “nosodes” y son preparaciones homeopáticas de amplio espectro, provenientes de cultivos o de muestras clínicas de microorganismos (bacterias, hongos y virus) o de parásitos, de tejidos enfermos (tejidos cancerosos) o de productos en descomposición de humanos o animales (Shah, 2014). Kiarazm et al. (2011) realizaron un estudio en vacas con mastitis subclínica, tratadas con medicamentos homeopáticos desarrollados a partir de nódulos, habiendo obtenido un menor recuento de células somáticas y una reducción en las bacterias aisladas, con respecto al tratamiento control. Mazón-Suástegui et al. (2019 a), demostraron el efecto de nosodes de *Vibrio* sobre la respuesta inmune y antioxidante en el pez marino *Seriola rivoliana* y López-Carvallo et al. (2019) mostraron que estos medicamentos homeopáticos nosódicos de bacterias patógenas aumentaron la cuenta hemocítica y la actividad de las enzimas antioxidantes en juveniles de *Argopecten ventricosus*.

El tratamiento T4 (PhA 7C+SIT 7C) fue preparado mediante dilución centesimal de los medicamentos homeopáticos comerciales (6C) de Similia® *Phosphoricum acidum* y *Silicea terra*. Estos medicamentos tienen efectos funcionales y biológicos, ya que de acuerdo con un estudio realizado por Mazón-Suástegui et al. (2017), con su aplicación se mejoró el crecimiento, la supervivencia y la respuesta inmune en juveniles de almeja catarina *A. ventricosus* retados contra *V. alginolyticus*. Estos mismos medicamentos incrementaron la ganancia en peso, el peso diario ganado y la supervivencia, en juveniles de *P. vannamei*.

La calidad microbiológica del agua constituye un factor de riesgo para la aparición de microorganismos patógenos y por tanto la aplicación de probióticos permite reducir la prevalencia de patógenos oportunistas en el ambiente (Chumpol et al., 2017). El género *Vibrio* se encuentra ampliamente distribuido en el medio ambiente marino, forma parte de la microbiota presente en el cultivo del camarón (Wang et al., 2015), está asociado con varias enfermedades de los organismos acuáticos y su presencia en los cultivos puede afectar tanto a larvas como a adultos (Thompson et al., 2010). Los probióticos han demostrado tener un gran potencial para modular la microbiota intestinal, eliminar bacterias dañinas incluso del género *Vibrio* y disminuir la concentración de iones tóxicos en los estanques de cría de camarones (Nimrat et al., 2012).

Durante el desarrollo de la presente investigación, la aplicación de actinomicetos probióticos y medicamentos homeopáticos disminuyó la concentración de *Vibrio* spp., tanto en el agua de cultivo como en hepatopáncreas del camarón. Resultados similares se han obtenido previamente, con el uso de bacterias probióticas. La adición de *Bacillus* sp. como suplemento en la dieta de *P. monodon* disminuyó la carga de *Vibrio* spp. en el estanque, lo cual favoreció la prevalencia de bacterias heterotróficas (Boonthai et al., 2011). Silva et al. (2012) evaluaron la adición de un producto comercial compuesto por *Bacillus* spp. en diferentes estadios de *L. vannamei* y demostraron que el tratamiento disminuyó la carga de *Vibrio* sp., tanto en el intestino de los animales como en el agua. García-Bernal et al. (2016) demostraron que las cepas de

*Streptomyces* RL8 y N7 disminuyeron la concentración de *Vibrio* en el agua de cultivo y en el hepatopáncreas de *L. vannamei*, cuando fueron aplicadas por 30 días.

## CONCLUSIONES

La utilización de actinomicetos probióticos y de medicamentos homeopáticos no solo mejoraron la calidad del agua del agua de cultivo, sino que incrementaron la cuenta total de bacterias heterótrofas marinas mientras que redujeron la cuenta de *Vibrio* spp. en hepatopáncreas.

Considerando que ambos tratamientos favorecieron el crecimiento y la supervivencia de *L. vannamei*, es posible asumir que estos probióticos y los medicamentos homeopáticos estudiados podrían tener una aplicación, tanto como tratamientos por separado o en sinergia, durante el proceso de innovación y mejora continua del cultivo de camarón.

Ambos tratamientos son bio-seguros y eco-amigables, y su aplicación puede ser técnicamente viable y económicamente rentable, contribuyendo a reducir el uso de antibióticos para lograr establecer a futuro, una camaronicultura ecológicamente sostenible.

## Agradecimientos

El estudio fue financiado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación (México), proyectos Ciencia Básica CONACYT No. 258282 “Evaluación experimental de homeopatía y nuevos probióticos en el cultivo de moluscos, crustáceos y peces de interés comercial” y Proinnova CONACYT-241777, bajo la responsabilidad académica de JMMS. Se agradece el apoyo de la Empresa Acuicultura Mahr y del personal técnico del CIBNOR: Norma Ochoa y Julián Garzón.

## REFERENCIAS

- Ahmed E., Holmström S.J. (2015). Siderophore production by microorganisms isolated from a podzol soil profile. *Geomicrobiology Journal*, 32:397-411.
- Akhter N., Wu B., Memon A.M., Mohsin M. (2015) Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review, *Fish Shellfish Immunology*, 45:733-741.
- Aly S.M., Ahmed Y.A.G, Ghareeb A.A.A, Mohamed M.F. (2008). Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections, *Fish & Shellfish Immunology*, 25:128-136.
- Augustine D., Jacob J.C., Philip R. (2015). Exclusion of *Vibrio* spp. by an antagonistic marine actinomycete *Streptomyces rubrolavendulae* M56. *Aquaculture Research*:1-10.
- Bell I.R., Koithan M. (2012). A model for homeopathic remedy effects: low dose nanoparticles, allostatic cross-adaptation, and time-dependent sensitization in a complex adaptive system. *BMC complementary and alternative medicine*, 12:191.
- Boonthai T., Vuthiphandchai V., Nimrat S. (2011). Probiotic Bacteria Effects on Growth and Bacterial Composition of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture Nutrition*, 17:34-38.
- Braccini G.L., Marçal M.R., Ribeiro R.P., Hideo R., Riggo R., Olivera C.A.L., Hildebrandt J.F., Vargas L. (2013). Morpho-functional response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to a homeopathic complex. *Homeopathy*, 102:233-241.
- Chumpol S., Kantachote D., Nitoda T., Kanzaki H. (2017). The Roles of Probiotic Purple Nonsulfur Bacteria to Control Water Quality and Prevent Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) for

- Enhancement Growth with Higher Survival in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) During Cultivation. *Aquaculture*, 47:27-33.
- Das S., Lyla P. Ajmal Khan S. (2006). Application of *Streptomyces* as a probiotic in the laboratory culture of *Penaeus monodon* (Fabricius). *Israeli J Aquacult. – Bamid*, 58:198-204.
- Das S., Ward L., Burke C. (2008). Prospects of using marine actinobacteria as probiotics in aquaculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81:419-429.
- Das S., Ward L.R. Burke C. (2010). Screening of marine *Streptomyces* spp. for potential use as probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 305:32-41.
- Decamp O., Moriarty D.J., Lavens, P. (2008). Probiotics for shrimp larviculture: review of field data from Asia and Latin America. *Aquaculture Research*, 39:334-338.
- Dharmaraj S., Dhevendaran K. (2010). Evaluation of *Streptomyces* as a probiotic feed for the growth of ornamental fish *Xiphophorus helleri*. *Food Technology and Biotechnology*, 48:497- 504.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2016. The state of world fisheries and aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. FAO, Rome Available at [http://www.fao.org/fi/oldsite/eims\\_search/1\\_dett.asp?pub\\_id=316888](http://www.fao.org/fi/oldsite/eims_search/1_dett.asp?pub_id=316888).
- Félix N., Sudharsan M. (2004) Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Nutrition*, 10:193-197.
- García-Bernal M. (2016). Obtención de actinomicetos marinos con acción probiótica en ostiones y camarones. Tesis de Doctorado. Universidad Central de Las Villas. Cuba
- García-Bernal M., Campa-Córdova A.I., Saucedo P.E., Casanova-González M., Medina-Marrero R., Mazón-Suástegui J.M. (2015). Isolation and *in vitro* selection of actinomycetes strains as potential probiotics for aquaculture. *Veterinary World*, 8:170-176.
- García-Bernal M., Medina-Marrero R., Campa-Córdova Á.I., Mazón-Suástegui, J.M. (2017). Probiotic effect of *Streptomyces* strains alone or in combination with *Bacillus* and *Lactobacillus* in juveniles of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 25:927-939.
- García-Bernal M., Medina-Marrero R., Rodríguez-Jaramillo C., Marrero-Chang O., Campa-Córdova Á. I., Medina-García R., Mazón-Suástegui J.M. (2018). Probiotic effect of *Streptomyces* spp. on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture Nutrition*, 24:865-871.
- Hernández-Llamas A., Cabanillas-Ramos J., Magallón-Barajas F.J. (2016). Estimating impact of white spot disease on economic risk in semi-intensive shrimp farms in Mexico: the case of the State of Sinaloa. *Reviews Aquaculture*, 8:111–120.
- Khuda-Bukhsh A.R., Pathak, S. (2008). Homeopathic drug discovery: theory update and methodological aspect. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 3:979-990.
- Kiarazm M., Tajik P., Nava H.G. (2011). Assessment of the effect of homeopathic nosodes in subclinical bovine mastitis. *Annals of Biological Research*, 2:552-562.
- Kumar R.N., Raman R P., Jadhao S B., Brahmchari,R.K., Kumar K., Dash, G. ( 2013). Effect of dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* on gut microbiota, growth and immune response in giant

- freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Aquaculture International*, 21: 387-403.
- Liu K.F., Chiu C.H., Shiu Y.P., Cheng W., Liu C.H. (2010). Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. *Fish & Shellfish Immunology*, 28:837-844.
- Liu H., Wang S., Cai Y., Guo X., Cao Z., Zhang Y., Liu S., Yuan W., Zhu W., Zheng Y., Xie Z., Guo W., Zhou, Y. (2017). Dietary administration of *Bacillus subtilis* HAINUP40 enhances growth, digestive enzyme activities, innate immune responses and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 60:326-333.
- López-Carvallo J.A., Arcos-Ortega G F., Tovar-Ramírez D., Hernández-Oñate M.Á., Abasolo-Pacheco F., García-Corona J.L., Mazón-Suástegui J.M. (2019). Effect of immunomodulatory medication over the general response of juvenile Catarina scallop (*Argopecten ventricosus* Sowerby II, 1842). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47:65-77.
- Merlini L.S., Vargas L., Piau R., Ribeiro R.P., Merlini N.B. (2014). Effects of a homeopathic complex on the performance and cortisol levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Homeopathy*, 103:139-142.
- Mazón-Suástegui J.M., García-Bernal M. Saucedo P.E., Campa-Córdova A.I., Abasolo-Pacheco F. (2017). Homeopathy outperforms antibiotics in juvenile scallop *Argopecten ventricosus*: Effects on growth, survival, and immune response. *Homeopathy*, 106:18-26.
- Mazón-Suástegui J.M., García-Bernal M., Avilés-Quevedo A., Campa-Córdova A.I., Salas-Leiva J., Abasolo-Pacheco F. (2018-a). Assessment of homeopathic medicines on survival and antioxidant response in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Revista MVZ Córdoba*, 23:6850-6859.
- Mazón-Suástegui J.M., Tovar-Ramírez D., Salas-Leiva J. S., Arcos-Ortega G.F., García-Bernal M., Avilés-Quevedo M.A., López-Carvallo J.A., García-Corona J.L., Ibarra-García L.E., Ortíz-Cornejo N.L., Teles A., Rosero-García A., Abasolo-Pacheco F., Campa-Cordova A.I., Saucedo Lastra P.E., Barajas-Frias J.D., Ormart-Castro P., Rodríguez-Jaramillo M.C., González-González R., Barajas-Ponce U., Tordecillas-Guillén J.L., Álvarez-Gil F.A., Pineda-Mahr G., Peiro-López J., Robles-Mungaray M. (2018-b). Aquacultural Homoeopathy: A Focus on Marine Species. In: Diarte-Plata G and Escamilla R (eds), "Aquaculture: Plants and Invertebrates". IntechOpen Books. DOI: <http://dx.doi.org/19.5772/intechopen.78030>
- Mazón-Suástegui J.M., Salas-Leiva J., Teles A., Tovar-Ramírez D. (2019-a). Immune and antioxidant enzyme response of Longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) juveniles to ultra-diluted substances derived from phosphorus, silica and pathogenic *Vibrio*. *Homeopathy*, 108:43-53.
- Mazón-Suástegui J.M., Ojeda-Silvera C.M., García-Bernal M., Avilés-Quevedo M.A., Abasolo-Pacheco F., Batista-Sánchez D., Tovar-Ramírez D., Arcos-Ortega F., Murillo-Amador B., Nieto-Garibay A., Ferrer-Sánchez Y., Morelos-Castro R.M., Alvarado-Mendoza A., Díaz-Díaz M., & Bonilla-Montalvan B. (2019-b). Agricultural homeopathy: New insights into organic's. In: Jan Moudry (ed.) "Multifunctionality and Impacts of Organic Agriculture". IntechOpen Books. DOI: <http://dx.doi.org/19.5772/intechopen.84482>.
- Nimrat S., Suksawat S., Boonthai T., Vuthiphandchai V. (2012). Potential *Bacillus* probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Veterinary Microbiology*, 159:443-450.
- Pinkus T. (2009). Animal Homeopathy- a pragmatic approach. *Homeopathy in Practice Summer*, 1- 27.
- Ramachandran K. (2017). Present Status and Prospect Trends of Probiotics in Shrimp Aquaculture. *J Fisheries Sciences.com* 11(2):071-73.

- Shah R. (2014). Scientific method of preparing homeopathic nosodes. *Indian Journal of Research in Homeopathy*, 8:166-173.
- Secretaría de Salud 2015. Farmacopea homeopática de los Estados Unidos Mexicanos. Tercera Edición. DERECHOS RESERVADOS © 2015. SECRETARÍA DE SALUD, MÉXICO D.F. ISBN: 978-607-460-509-9. Biblioteca Nacional de México 615.532-scdd21. 398 p.
- Siena C.E., Natali M.R.M., Braccini G.L., de Oliveira A.C., Ribeiro R.P., Vargas L. (2010). Efeito do núcleo homeopático Homeopatia 100® na eficiência produtiva em alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Semina: Ciências Agrárias*, 31:985-994.
- Silva E.F., Soares, M.A., Calazans N.F., Vogeley J.L., Do Valle B.C., Soares R., Peixoto S. (2012). Effect of probiotic (*Bacillus* spp.) addition during larvae and postlarvae culture of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 44:13-21.
- Sokal R.R., Rohlf F. (1981). *Biometry*, 2nd edn. WH Feeman and Company, New York, p. 668.
- Thompson J., Gregory S., Plummer S., Shields R.J., Rowley, A.F. (2010). An *in vitro* and *in vivo* assessment of the potential of *Vibrio* spp. as probiotics for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Microbiology*, 109:1177-1187.
- Valentim-Zabott M., Vargas L., Ribeiro R.P.R., Piau R., Torres M.B., Rönnau M., Souza J.C. (2008). Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on performance, sexual proportion and histology. *Homeopathy*, 97: 190-195.
- Venkat H.K., Sahu N.P., Jain K.K. (2004). Effect of feeding *Lactobacillus*-based probiotics on the gut microflora, growth and survival of postlarvae of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research*, 35:501-507.
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., Verstraete W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 64:655-671.
- Wang L., Chen Y., Huang H., Huang Z., Chen H., Shao Z. (2015). Isolation and identification of *Vibrio campbellii* as a bacterial pathogen for luminous vibriosis of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 46: 395-404.
- Weinberg E.D. (2004). Suppression of bacterial biofilm formation by iron limitation. *Medical hypotheses*, 63: 863-865.
- You J., Xue X., Cao L., Lu X., Wang J., Zhang L., Zhang L., Zhou S. (2007). Inhibition of *Vibrio* biofilm formation by a marine actinomycete strain A66. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76:1137-1144.
- Zorriehzahra M.J., Delshad S.T., Adel M., Tiwari R., Karthik K., Dhama K., Lazado C.C. (2016). Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Veterinary Quarterly*, 36:228-241.

Recibido: 18-02-2020  
Aprobado: 09-07-2020  
Versión final: 13-07-2020

