



La alimentación inicial como mecanismo para enfrentar los desafíos bacterianos del camarón

César Molina-Poveda, Carlos Mora-Pinargote, Manuel Espinoza-Ortega.
Guayas Research Station
Skretting Aquaculture Innovation



INTRODUCCIÓN

El sistema de producción de alimento de más rápido crecimiento en el mundo durante la última década es la acuicultura y contribuye a un tercio de la producción mundial de alimentos para consumo humano. En el período comprendido entre 1990 y 2020, la acuicultura mundial total se expandió un 609 % en términos de producción anual, con un ritmo medio de crecimiento del 6,7 % al año (fao.org). Esto representó una producción total por encima de los 85.4 millones de toneladas.

Las enfermedades bacterianas son los principales patógenos en la acuicultura. Tradicionalmente estas enfermedades eran tratadas mediante el uso controlado y continuo de antibióticos. Lamentablemente, la práctica y el uso de dichos compuestos generan preocupaciones de salud pública debido a la posible aparición de resistencias y efectos adversos sobre el medio ambiente (Burridge et al., 2010), impulsando a los productores a explorar sustitutos profilácticos amigables con el medio ambiente. Varias líneas de investigación en la actualidad están explorando diferentes alternativas que ayuden a reducir su uso. Los aditivos nutricionales con propiedades antibacterianas y/o inmunomoduladoras específicas son una alternativa para ayudar a la industria a afrontar estos desafíos. **Hoy en día los estudios se han centrado en búsqueda de vacunas (Gudding and Muiswinkel, 2013), productos de plantas medicinales (Newaj-fyzul et al., 2014), prebióticos (Ganguly and Chandra, 2013), compuestos antimicrobianos y probióticos (Sahoo et al., 2016).** Entre estas alternativas, los fitogénicos, material protoplásmico y péptidos antimicrobianos (AMP por sus siglas en inglés) han mostrado beneficios como un mejor rendimiento del crecimiento, optimización de la eficiencia alimenticia y resistencia a enfermedades.

Los AMP son una clase de pequeños péptidos que existen ampliamente en la naturaleza y que constituyen una parte importante del sistema inmunológico innato de diferentes organismos. A diferencia de los antibióticos convencionales, que normalmente funcionan sobre un objetivo antimicrobiano definido, los AMP ejercen múltiples actividades antimicrobianas que podrían proporcionar una estrategia para evitar que las bacterias desarrollen resistencia. La actividad potente, pero de espectro reducido de **los AMP los convierte en una nueva solución potencial contra el uso de antibióticos con menos efectos secundarios no deseados en el microbioma en comparación con los antibióticos tradicionales de amplio espectro.**

Las vacunas bacterianas o bacterinas son otra alternativa para producir una inmunización activa mediante la administración oral o parental de bacterias inactivas o sus antígenos (Plotkin, 2013).

Las bacterinas se han utilizado en acuicultura y sus efectos han sido beneficiosos para la salud de los animales acuáticos (Klannukarn et al., 2004; Ray et al., 2017). Varios estudios han confirmado la capacidad de protección de bacterinas elaboradas a partir de especies de *Vibrios spp.* para inducir factores reguladores inmunológicos en camarones peneidos que confieren resistencia al *Vibrio* patógeno (Tung et al., 2009). Este tipo de vacunas bacterianas contiene patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) que incluyen lipopolisacáridos y peptidoglicanos. Los PAMP actúan como estimulantes inmunológicos y activan los receptores de reconocimiento de patógenos y el sistema proPO profenoloxidasas. (Tafalla et al., 2013). Las bacterinas se pueden extraer y elaborar a partir de las paredes de microorganismos como bacterias Gram negativas (lipopolisacáridos), bacterias Gram positivas (peptidoglicanos) y hongos (β -1, 3-glucanos), incluso el uso de las células completas han mostrado poder inmunoestimulante (Flores-Miranda et al., 2011; Sajeevan et al., 2009). Los métodos de administración de estas vacunas son variadas desde la inmersión e inyección, hasta la adición al alimento.

Finalmente, los extractos naturales de especies vegetales contienen una amplia variedad de metabolitos secundarios que al ser ingeridos tienen un impacto directo en el sistema inmune y digestivo. El presente trabajo analiza tres casos de estudio usando soluciones naturales para demostrar cómo la alimentación temprana puede ser optimizada para promover no solo el crecimiento y la supervivencia, sino también la resistencia a enfermedades, la calidad del producto y la sostenibilidad en la producción de camarón.

USO DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS (AMP):

El estudio se realizó en una granja camaronera ubicada en Sabana Grande (Guayas) durante el periodo invernal de los años 2021-2022. Post-larvas *Litopenaeus vannamei* con un peso inicial de 6,0 – 7,0 mg fueron asignadas aleatoriamente a seis precrías: 3 asignadas como control y 3 pre-crías suministradas con alimento suplementado con AMP. El AMP fue evaluado a la dosis recomendada por el fabricante. Los camarones se alimentaron manualmente cinco veces al día durante todo el ciclo siguiendo el régimen de alimentación de la granja durante los 19 a 26 días previo a la transferencia.

Al inicio de la prueba se utilizaron dispositivos de conteo que capturan y usan en imágenes para estimar el peso de los camarones. Al final del ensayo, los camarones se pesaron en grupos y se calculó un peso promedio. El número de camarones se estimó con base en la biomasa final transferida al estanque de engorde y el peso promedio.

En la Tabla 1 se presenta el promedio de los resultados encontrados en las pre-crías con la suplementación de AMP. Al final de 19 días de cultivo, los datos de producción mostraron un peso medio final muy similar entre los camarones criados en el estanque control en comparación con el tratamiento con AMP (0,23 g). Este patrón se repitió en la tasa de crecimiento diario promedio observado entre ambos tratamientos. Los resultados muestran

que el uso del producto AMP mejoraron un 16% la tasa de supervivencia de juveniles cultivados en precría comparado con el grupo control. Los resultados sugieren que los AMP pueden mejorar la supervivencia en camarón blanco del Pacífico *L. vannamei*. Aunque, el FCA no fue estadísticamente diferente entre los tratamientos, los resultados sugieren una reducción del 25% a mejorar la eficiencia alimenticia en camarones alimentados con AMPs.

Tabla 1. Parámetros zootécnicos promedio de postlarvas de *L. vannamei* alimentadas con dietas suplementadas con AMP versus alimento de control evaluado en pre-crías ubicadas en Sabana Grande.

| | AMP | Control |
|------------------------------|---------|---------|
| Área (ha) | 1,18 | 0,99 |
| Número inicial de animales | 673 300 | 560 400 |
| Peso Inicial (mg) | 6,7 | 6,9 |
| Densidad (camarones/ha) | 570 486 | 616 783 |
| Días de producción | 20 | 22 |
| Peso final (mg) | 325 | 335 |
| Biomasa ganada (lb /ha/día) | 24 | 27 |
| Tasa de supervivencia (%) | 88 | 72 |
| Peso ganancia (mg/camarón) | 307 | 453 |
| Crecimiento diario (mg /día) | 15 | 20 |
| FCA | 1,93 | 2,42 |

Un análisis fue realizado para determinar la concentración mínima inhibidora (MIC) de AMP frente a seis cepas de bacterias patógenas para el camarón como son de la incubación: *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *Pseudomonas spp.* y *Pseudomonas fluorescens*. El ensayo se realizó a las concentraciones indicadas en la Tabla 2. **Los resultados mostraron que las cepas de *Vibrio* se inhibieron a una concentración de 500 ppm, mientras que para inhibir el crecimiento de las *Pseudomonas* se necesitó una dosis de 1950 ppm como se muestra en la Tabla 2.**

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria realizada en diferentes concentraciones de AMPs. N: Negativo, P: Positivo.

| | Concentraciones (ppm) | | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 3450 | 2950 | 2450 | 1950 | 950 | 800 | 650 | 500 | 350 | 250 |
| V. parahaemolyticus | N | N | N | N | N | N | N | N | P | P |
| V. harveyi | N | N | N | N | N | N | N | N | P | P |
| V. vulnificus | N | N | N | N | N | N | N | N | P | P |
| V. alginolyticus | N | N | N | N | N | N | N | N | P | P |
| Pseudomonas spp. | N | N | N | N | P | P | P | P | P | P |
| Pseudomonas fluorescens | N | N | N | N | P | P | P | P | P | P |

Según Xu et al. (2020) los AMP pueden promover el rendimiento del crecimiento siguiendo mecanismos similares a los de los antibióticos, que incluyen principalmente la mejora de la estructura de la microbiota intestinal, morfología intestinal e inmunidad (Wu et al., 2012). La salud intestinal está asociada con la absorción enteral (Xu et al., 2020). **La morfología intestinal es un indicador importante de la salud intestinal (Peng et al. 2016). En cuanto a secciones intestinales afectadas por AMP Xu et al. (2020) también informaron que los AMP mejoran la salud intestinal en animales terrestres mediante la estimulación de la proliferación de células epiteliales.** En estos estudios las vellosidades más largas se encuentran entre los indicadores de la morfología intestinal y podrían estar asociadas con la mitosis celular activa y una mayor absorción de nutrientes como carbohidratos y ácidos grasos (Peng et al., 2016, Liu et al., 2019). Los resultados de este estudio sugieren que los péptidos antimicrobianos deberían considerarse como una alternativa natural a los antibióticos en la producción de camarón en fases iniciales.

USO DE MATERIAL PROTOPLÁSMICO BACTERIANO (MPB)

Post-larvas 12 obtenidos de un laboratorio ubicado en un laboratorio en Guayas, fueron transportados en contenedores plásticos de 1 TM hasta la camaronera localizada en Playas donde fueron sembrados en pre-crías de tierra. Los alimentos usados en el presente estudio se manufacturaron a escala comercial y fueron

formulados para contener un 42% de proteína con una longitud nominal determinada según la especificación del producto con diámetros de 0,8 mm y 1,0 mm.

Los ensayos realizados a una dosis del producto optimizada previamente, las precrías que recibieron el producto alcanzaron 13lb/ha/día mas que el otro grupo de camarones que se alimentaron con la dieta control, y aunque no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos, la producción tuvo una tendencia a ser más alta con el uso de MPB (+27%) en comparación con el control (Tabla 3). Además, el crecimiento diario promedio fue mayor cuando se utilizó MPB, sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas entre los dos tratamientos (9,0 vs 8,3 mg/camarón/día). En cuanto al FCA, se observó una marcada mejor conversión alimenticia en el grupo de camarones tratados con MPB en comparación con el control (2,47 vs 3,89). Estos resultados demostraron la idoneidad de la MPB para incrementar la supervivencia lo que puede atribuirse al uso del propio material protoplásmico de la cepa para inhibir el crecimiento y la patogenicidad de bacterias pertenecientes al género Vibrio.

Este estudio muestra que el uso de MPB tiene un efecto significativo en la supervivencia de juveniles criados en estanques de pre-cría durante la estación seca/fría. Se requieren más estudios en una temporada de lluvias donde los brotes de vibriosis son más desafiantes debido a las temperaturas ambientales más altas. Además, se recomienda una evaluación con mayores densidades de población, así como un análisis económico para evaluar la rentabilidad de este novedoso producto.

Tabla 3. Rendimiento promedio de postlarvas de *L. vannamei* alimentadas con dietas suplementadas con material protoplásmico bacteriano (MPB).

| | MPB | Control |
|---|-----------|-----------|
| Área (ha) | 1.27 | 1.43 |
| Número inicial de camarones | 1 716 667 | 1 540 000 |
| Peso inicial (mg) | 6.0 | 8.0 |
| Densidad (camarones /ha) | 1 414 357 | 1 186 363 |
| Días de cultivo | 26 | 23 |
| Peso final (mg) | 246 | 190 |
| Ganancia de biomasa (lb /ha/día) | 48.4 | 35.3 |
| Supervivencia (%) | 88 | 71 |
| Ganancia en peso (mg) | 240 | 182 |
| Crecimiento medio diario (mg/ camarón /día) | 9.0 | 8.3 |
| FCA | 2.47 | 3.89 |

Los resultados demostraron que la optimización de las dosis de bacterina fue adecuada para mejorar las tasas de supervivencia en las condiciones de campo probadas y están respaldados por trabajos previos realizados in vivo. Estos hallazgos también sugieren el uso de bacterina como una nueva estrategia profiláctica para inhibir y controlar las bacterias patógenas, ya que estos productos apoyan la salud del camarón mediante la activación del sistema inmunológico y los receptores contra los desafíos bacterianos.

Durante el estudio llevado en campo, post-larvas fueron recolectadas para evaluar el efecto de los péptidos microbianos sobre genes relaciones a la inmunidad como proPO y lisozima; importantes indicadores de la inmunidad no-específica en crustáceos que reflejan la capacidad inmune innata del individuo (Lee y Söderhäll, 2002).

El sistema Profenoloxidasa (proPO, Figura 1) es la forma zimógena de la fenoloxidasa (PO) que se activa con la presencia de péptidos microbianos como lipoproteínas (LPS), glucanos y peptidoglucanos cuya función es la de activar la reacción de melanización (Mak y Saunders, 2006). En las pruebas realizadas en campo se observó que las pre-crías

alimentadas con la adición de péptidos microbianos tuvo una mayor expresión del gen proPO, lo que sugiere una mayor capacidad de respuesta contra patógenos bacterianos.

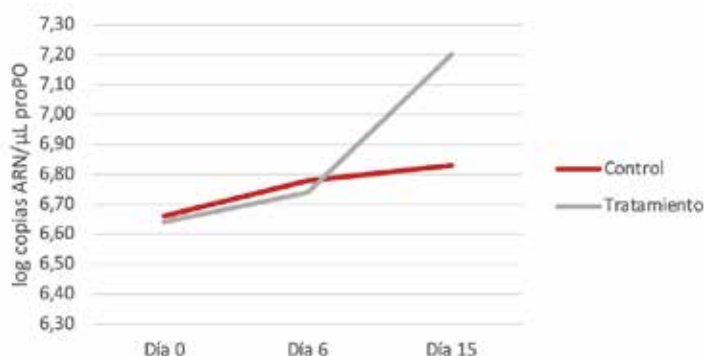


Figura 1. Expresión genética del gen proPO determinado a partir de post-larvas alimentadas con péptidos microbianos.

De manera similar la expresión del gen lisozima (Izm), una enzima producida principalmente por macrófagos y que cuya producción induce una respuesta inmune hacia compuestos o péptidos microbianos (Goethe y Phi-Van, 1998), fue significativamente mayor en los camarones alimentados con dietas suplementadas con péptidos microbianos, demostrando que este tipo de moléculas tienen efectos benéficos sobre la inmunología del camarón.

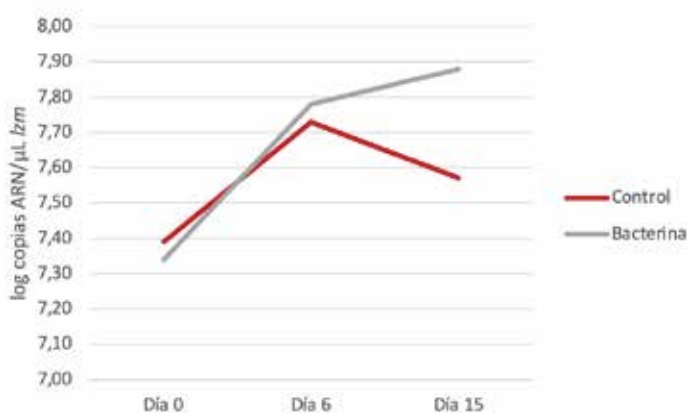


Figura 2. Expresión genética del gen Izm determinado a partir de post-larvas alimentadas con péptidos microbianos.

USO DE EXTRACTOS FITOGÉNICOS (EF)

El estudio se realizó en seis pre-crías con fondo de tierra con un área entre 0,5 y 2 ha ubicadas en El Morro, Guayas, Ecuador. A lo largo de este ensayo, el agua se bombeó hacia un canal de distribución y luego se pasó a las precrías. Las post-larvas con un mismo código genético se sembraron a una densidad de entre 100 y 150 PL m⁻² destinándose 3 precrías para el tratamiento y 3 para el control. Las post-larvas fueron alimentados cuatro veces al día (09:00; 12:00, 15:00, 17:00) durante los primeros 4-5 días; posteriormente se instalaron alimentadores automáticos en las áreas más profundas de las precrías. Se estableció un tiempo de alimentación basado en la evaluación del consumo de alimento con bandejas de alimentación. La aplicación del extracto fitobiótico fue “on top”, recubriendo el alimento utilizando un aglutinante sintético.

Al término del ciclo de producción de 23 días la biomasa total producida con el EF fue 23% mayor que las precrías que recibieron la dieta control. De igual manera, se observó un mayor rendimiento del 39% en beneficio de las precrías que recibieron el alimento con extractos fotogénicos.

En este ensayo al igual que los AMP, los fotogénicos no indujeron cambios significativos en la tasa de crecimiento de las postlarvas de camarón, más bien una menor tasa probablemente por la mayor biomasa resultante en este tratamiento o también podría sugerir que estas moléculas no promueven un mayor crecimiento, sino que actúan sobre los patógenos.

Los resultados promedio de las pruebas realizadas se presentan en la Tabla 4. En promedio, las poblaciones de camarones alimentados con EF presentaron una mejor supervivencia (+9%) cuando se enfrentaron al tratamiento control. Estos parámetros demuestran la idoneidad de este extracto en términos de supervivencia y podrían atribuirse a los aceites esenciales presentes y que actúan como inhibidores de bacterias tanto

Gram positivas como Gram negativas. No obstante, se requieren más estudios para validar el producto en diferentes escenarios con una mayor densidad de población para probar las capacidades del producto para mejorar la supervivencia en tales condiciones.

| | Extracto Fitogénico | Control |
|-------------------------------------|---------------------|-----------|
| Área (ha) | 1,11 | 1,26 |
| Número inicial de camarones | 1 256 667 | 1 106 667 |
| Peso inicial (mg) | 0.9 | 1.3 |
| Densidad (camarones/ha) | 1 646 417 | 1 355 758 |
| Días de cultivo | 23 | 23 |
| Peso final (mg) | 240 | 290 |
| Producción total (lb) | 811 | 658 |
| Rendimiento (lb/ha/día) | 43 | 31 |
| Supervivencia (%) | 82 | 73 |
| Ganancia de peso (mg/camarón) | 229 | 282 |
| Crecimiento diario (mg/camarón/día) | 10,4 | 12,6 |

Tabla 4. Promedio de los parámetros zootécnicos de postlarvas de *L. vannamei* alimentadas con dietas suplementadas con extracto fitogénico en precrías de tierra ubicados en Playas, Guayas.

CONCLUSIÓN

Uno de los factores esenciales que influye en el éxito de la acuicultura de camarones es la alimentación inicial proporcionada durante las fases tempranas de desarrollo. La calidad y composición de la dieta en esta etapa influye directamente en el estado de salud, crecimiento y supervivencia del camarón en la siguiente fase de engorde. La comprensión de los efectos de la alimentación inicial en la salud y desarrollo de *L. vannamei* por tanto es esencial para avanzar hacia prácticas de acuicultura más sostenibles. Los productos naturales descritos en el presente artículo constituyen una alternativa válida para enfrentar los desafíos bacterianos en las fases tempranas del cultivo de *L. vannamei*.



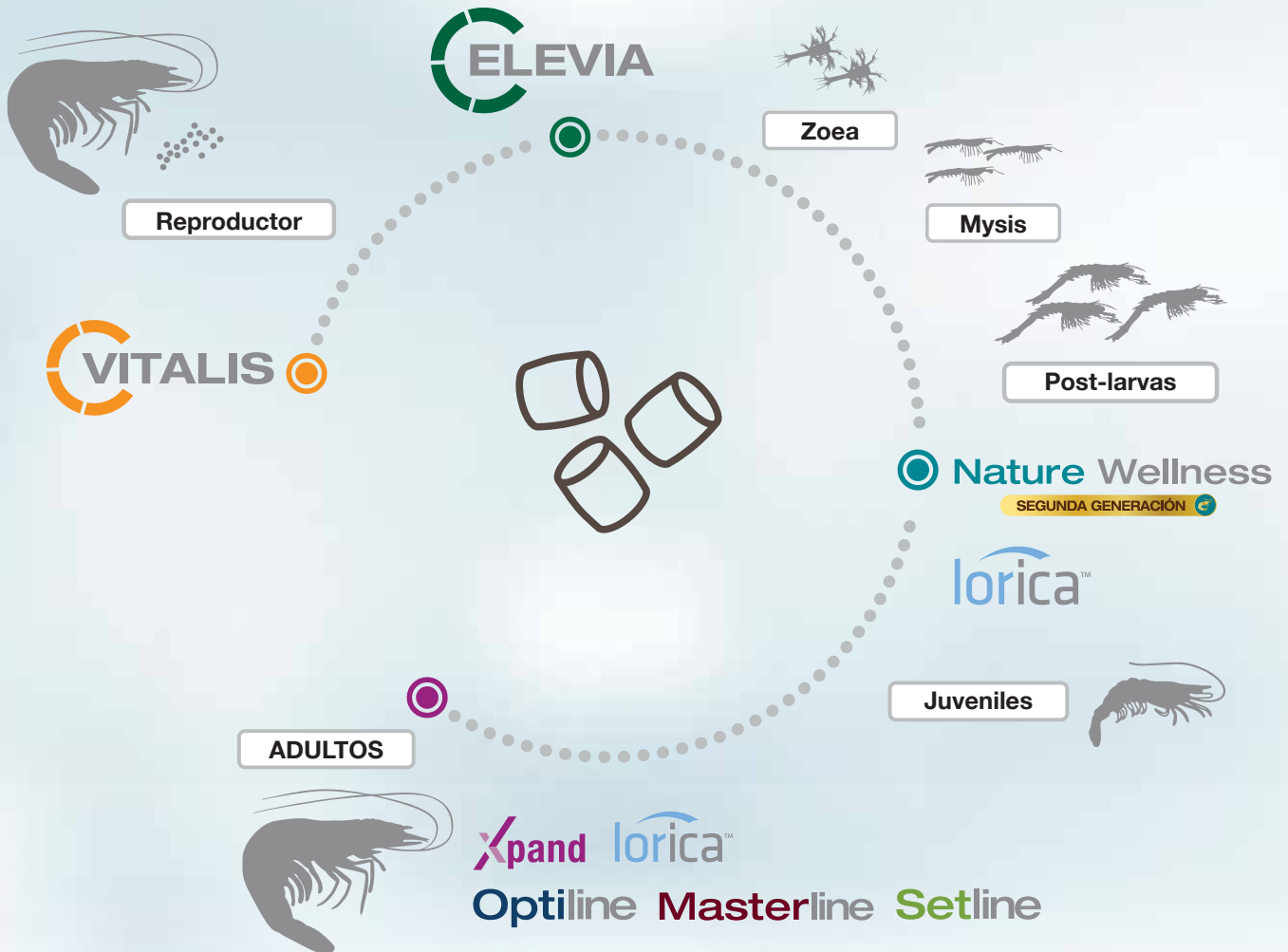
REFERENCIAS

- Burrige, L., Weis, J.S., Cabello, F., Pizarro, J., Bostick, K., 2010. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture* 306, 7–23. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.020>
- Flores-Miranda, M. del C., Luna-González, A., Campa-Córdova, Á.I., González-Ocampo, H.A., Fierro-Coronado, J.A., Partida-Arangure, B.O., 2011. Microbial immunostimulants reduce mortality in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio sinaloensis* strains. *Aquaculture* 320, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.005>
- Ganguly, S., Chandra, K., 2013. Supplementation of prebiotics in fish feed: a review 195–199. <https://doi.org/10.1007/s11160-012-9291-5>
- Goethe, R., Phi-Van, L., 1998. Posttranscriptional Lipopolysaccharide Regulation of the Lysozyme Gene at Processing of the Primary Transcript in Myelomonocytic HD11 Cells 1, *The Journal of Immunology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.4049/jimmunol.160.10.4970>
- Gudding, R., Muiswinkel, W.B. Van, 2013. Fish & Shellfish Immunology A history of fish vaccination Science-based disease prevention in aquaculture. *Fish Shellfish Immunol* 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.031>
- Klannukarn, S.S., Wongprasert, K., Khanobdee, K., Meeratana, P., Taweepreda, P., Withyachumnarkul, B., 2004. *Vibrio* Bacterin and Carboxymethyl β -1,3-Glucans Protect *Penaeus monodon* from *Vibrio harveyi* Infection. *J Aquat Anim Health* 16, 238–245. <https://doi.org/10.1577/H04-022.1>
- Lee, S.Y., Söderhäll, K., 2002. Early events in crustacean innate immunity. *Fish Shellfish Immunol* 12, 421–437. <https://doi.org/10.1006/fsim.2002.0420>
- Liu, H., Cao, X., Wang, H., Zhao, J., Wang, X., Wang, Y., 2019. Antimicrobial peptide KR-32 alleviates *Escherichia coli* K88-induced fatty acid malabsorption by improving expression of FATP4 1. *J Anim Sci*.
- Mak, T.W., Saunders, M.E., 2006. Comparative Immunology, in: *The Immune Response*. Elsevier, pp. 611–637. <https://doi.org/10.1016/B978-012088451-3.50023-5>
- Newaj-fyzul, A., A.H., A.-H., Austin, B., 2014. Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*.
- Peng, Z., Wang, A., Xie, L., Song, W., Wang, J., Yin, Z., Zhou, D., 2016. Use of recombinant porcine β -defensin 2 as a medicated feed additive for weaned piglets. *Nature Publishing Group* 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep26790>
- Plotkin, S.A., 2013. A short history of vaccination, Sixth Edit. ed, *Vaccines*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00017-3>
- Prem Anand, T., Chellaram, C., Kumaran, S., Shanthini, C., 2011. Screening for antibiotic producing marine bacteria against fish pathogens. *Int J Pharma Bio Sci* 2, 314–325.
- Ray, A.K., Gopal, C., Solanki, H.G., Ravisankar, T., Patil, P.K., 2017. Effect of orally administered vibrio bacterin on immunity, survival and growth in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) grow-out culture ponds. *Lett Appl Microbiol* 65, 475–481. <https://doi.org/10.1111/lam.12802>
- Sahoo, T.K., Jena, P.K., Patel, A.K., Seshadri, S., 2016. Bacteriocins and their applications for the treatment of bacterial diseases in aquaculture: A review. *Aquac Res* 47, 1013–1027. <https://doi.org/10.1111/are.12556>
- Sajeevan, T.P., Philip, R., Bright Singh, I.S., 2009. Dose/frequency: A critical factor in the administration of glucan as immunostimulant to Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 287, 248–252. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.045>
- Tafalla, C., Bogwald, J., Dalmo, R., 2013. Adjuvants and immunostimulants in fish vaccines: Current knowledge and future perspectives. *Fish Shellfish Immunol* 1–45.
- Tung, H.T.T., Koshio, S.K., Teshima, S.T., Ishikawa, M.I., Yokoyama, S.Y., Ren, T.R., 2009. Effects of Heat-Killed *Lactobacillus plantarum* Supplemental Diets on Growth Performance, Stress Resistance and Immune Response of Juvenile Kuruma Shrimp *Marsupenaeus japonicus* Bate. *Aquaculture Science*.
- Wu, S., Zhang, F., Huang, Z., Liu, H., Xie, C., Zhang, J., Thacker, P.A., Qiao, S., 2012. Peptides Effects of the antimicrobial peptide cecropin AD on performance and intestinal health in weaned piglets challenged with *Escherichia coli*. *Peptides (N.Y.)* 35, 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.03.030>
- Xu, B.C., Fu, J., Zhu, L.Y., Li, Z., Wang, Y.Z., Jin, M.L., 2020. Overall assessment of antimicrobial peptides in piglets: a set of meta-analyses. *Animal* 14, 2463–2471. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001640>
- Xu, B. C., Fu, J., Zhu, L.Y., Li, Z., Wang, Y.Z., Jin, M.L., 2020. Overall assessment of antimicrobial peptides in piglets: a set of meta-analyses. *Animal* 14, 2463–2471. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001640>

Alimentos Iniciadores



SOLUCIONES NUTRICIONALES PARA CADA ETAPA DE CULTIVO DEL CAMARÓN



OUR PURPOSE

Feeding *the Future*