

Evaluación del uso de probióticos en la disminución del tiempo de larvicultura en condiciones de laboratorio en sábalo (*Prochilodus lineatus*)

Lizardo Falcon S, Mendoza J, Guidoli M, Boehringer S

Director de Beca: Sanchez, Sebastian

Correo Electrónico: sofi_0387@hotmail.com

Palabras Claves: *Prochilodus lineatus*, probióticos, piscicultura

INTRODUCCION: En el nordeste argentino la acuicultura se vio favorecida, principalmente, por la introducción de especies nativas como *Rhamdia quelen* (bagre), *Prochilodus lineatus* (sábalo) y *Piaractus mesopotamicus* (Pacú) a los sistemas de producción. Los peces del género *Prochilodus* se encuentran entre los de mayor distribución y abundancia en los ríos de la cuenca del Plata, son iliófagos y representan la principal presa de peces carnívoros. Usualmente se los cultiva en estanques en tierra, en policultivo con otras especies presentando excelente crecimiento, entre 5 y el 30%, cuando es sembrado junto a peces como *P. mesopotamicus*¹. En 2014 se produjeron 7.475 toneladas de sábalo a nivel nacional². Los puntos críticos en piscicultura son, principalmente, tres: la baja supervivencia y desarrollo de larvas, la escasez y bajo peso de alevinos para la cría y engorde, y la falta de animales maduros sexualmente para la reproducción y reinicio del ciclo. Diferentes técnicas se aplican para incrementar la producción y tratar epizootias, como ser el uso de antibióticos, por su capacidad de reducir los requerimientos de nutrientes y permitir que una mayor cantidad de alimento se emplee para el crecimiento, mejorando su eficiencia^{3,4}. Sin embargo, en la actualidad, la EFSA prohíbe su uso en animales de consumo humano^{3,5,6}, por lo que se propone el uso de probióticos, definidos en acuicultura como "un adjunto microbiano vivo que tiene un efecto benéfico en el hospedador por modificar la comunidad microbiana asociada al mismo o al ambiente, asegurando una mejor utilización del alimento o incrementando su valor nutricional, además de incrementar la respuesta del hospedador frente a enfermedades y/o mejorando la calidad de su medioambiente"⁷. Resultados obtenidos previamente permitieron formular un producto probiótico y determinar la forma y dosis de administración adecuadas para acuicultura de Pacú. Los resultados demostraron incrementos del 100% en la sobrevivencia y peso medio de larvas de 15 días de vida bajo cría intensiva en laboratorio^{8,9}. El objetivo del presente trabajo fue evaluar si el plan de administración de los microorganismos probióticos propuesto por el grupo de investigación, es capaz de disminuir el tiempo necesario de permanencia de larvas en condiciones de laboratorio, manteniendo o mejorando los parámetros biométricos de larvas y juveniles en estanques a cielo abierto. En esta primera etapa de desarrollo de beca y tesis doctoral, se trabajó con ejemplares de sábalo (*Prochilodus lineatus*).

MATERIALES Y MÉTODOS: Las unidades experimentales en condiciones de laboratorio constaron de 300 larvas en peceras de 5 L con recambio de agua constante. A partir del quinto día de vida, los animales fueron

alimentados *ad libitum* con nauplios de *Artemia* sp. cuatro veces por día. Las unidades experimentales para la etapa de cría a cielo abierto constaron de estanques de material de 4 m³, con 0,125 larvas por m³, previamente fertilizados con 28 g/m² de alfalfa. Durante esta etapa los peces fueron alimentados *ad libitum* con balanceado de granulometría adecuada, dos veces por día. En el periodo de larvicultura en laboratorio la administración de bacterias se realizó directamente en el agua de las peceras, durante los primeros 5 días de vida y de forma conjunta con el alimento vivo, previa co-incubación de 2 horas, durante los siguientes 10 días en dosis determinadas anteriormente. La incorporación de la mezcla probiótica al agua del estanque a cielo abierto, se realizó por fertilización con alfalfa ensilada con las cepas benéficas, mientras que su administración a los animales en etapa de cría se realizó junto con el alimento balanceado en las dosis adecuadas (**Tabla 1**). La combinación entre diferentes momentos del pasaje de las larvas en condiciones de laboratorio a estanques a cielo abierto, (5, 10 o 15 días de vida) y la adición o no de microorganismos durante la larvicultura en laboratorio (L), en el agua de los estanques (E) y en el alimento balanceado en la etapa de cría (A) permitió obtener un total de 21 tratamientos más 3 controles. Los mismos se describen en la **tabla 2**. Todos los tratamientos fueron realizados por duplicado en un diseño completamente aleatorizado. Al finalizar el ensayo se procedió a la cuantificación, medición y peso de los animales en cada unidad experimental, a fin de determinar el largo estándar, el porcentaje de sobrevivencia, el peso medio y la biomasa total producida. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante los softwares Infostat® y Statista®.

La incorporación de la mezcla probiótica al agua del estanque a cielo abierto, se realizó por fertilización con alfalfa ensilada con las cepas benéficas, mientras que su administración a los animales en etapa de cría se realizó junto con el alimento balanceado en las dosis adecuadas (**Tabla 1**). La combinación entre diferentes momentos del pasaje de las larvas en condiciones de laboratorio a estanques a cielo abierto, (5, 10 o 15 días de vida) y la adición o no de microorganismos durante la larvicultura en laboratorio (L), en el agua de los estanques (E) y en el alimento balanceado en la etapa de cría (A) permitió obtener un total de 21 tratamientos más 3 controles. Los mismos se describen en la **tabla 2**. Todos los tratamientos fueron realizados por duplicado en un diseño completamente aleatorizado. Al finalizar el ensayo se procedió a la cuantificación, medición y peso de los animales en cada unidad experimental, a fin de determinar el largo estándar, el porcentaje de sobrevivencia, el peso medio y la biomasa total producida. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante los softwares Infostat® y Statista®.

RESULTADOS Y CONCLUSIÓN: Los resultados indicaron que los distintos tratamientos, sin tener en cuenta el tiempo de permanencia en condiciones de laboratorio, no modifica significativamente ($p > 0,05$) la sobrevivencia, el peso medio ni el largo de los animales, pero sí los valores de biomasa ($p < 0,05$). El control (OOO) y los tratamientos IOO y IIO muestran los valores más bajos de biomasa con promedios de 40,98; 42,68 y 43 g, respectivamente; con diferencias significativas de los grupos III y OII con

Tabla 1 – Dosis de cada una de las cepas de la formulación probiótica.

Cepa	Dosis	
	Larvicultura	Cría
<i>E. faecium</i> CRL 1937	6x10 ⁷ UFC/L	3x10 ⁸ UFC/g de alimento
<i>E. faecium</i> CRL 1938	6x10 ⁷ UFC/L	3x10 ⁸ UFC/g de alimento
<i>P. acidilactici</i> CRL 1939	6x10 ⁴ UFC/L	3x10 ⁵ UFC/g de alimento
<i>E. faecium</i> CRL 1940	6x10 ⁴ UFC/L	3x10 ⁵ UFC/g de alimento
<i>E. faecium</i> CRL 1941	6x10 ⁴ UFC/L	3x10 ⁵ UFC/g de alimento
<i>B. subtilis</i> A 252	6x10 ⁷ UFC/L	3x10 ⁸ UFC/g de alimento
<i>B. subtilis</i> A 253	6x10 ⁷ UFC/L	3x10 ⁸ UFC/g de alimento
<i>B. subtilis</i> A 254	6x10 ⁷ UFC/L	3x10 ⁸ UFC/g de alimento

Tabla 2 – Descripción del diseño experimental

Tratamiento	L	E	A	Días en laboratorio	Días en estanque
5 000	0	0	0	5	40
10 000	0	0	0	10	35
15 000	0	0	0	15	30
5 IOO	I	0	0	5	40
10 IOO	I	0	0	10	35
15 IOO	I	0	0	15	30
5 IIO	I	I	0	5	40
10 IIO	I	I	0	10	35
15 IIO	I	I	0	15	30
5 IOI	I	0	I	5	40
10 IOI	I	0	I	10	35
15 IOI	I	0	I	15	30
5 III	I	I	I	5	40
10 III	I	I	I	10	35
15 III	I	I	I	15	30
5 OIO	0	I	0	5	40
10 OIO	0	I	0	10	35
15 OIO	0	I	0	15	30
5 OII	0	I	I	5	40
10 OII	0	I	I	10	35
15 OII	0	I	I	15	30
5 OOI	0	0	I	5	40
10 OOI	0	0	I	10	35
15 OOI	0	0	I	15	30

O, indica ausencia de microorganismos probióticos

I, indica administración de microorganismos probióticos

valores de 71,98 y 72,22 g, respectivamente (**Gráfico 1**). Por otro lado, el pasaje de los animales en condiciones de laboratorio a estanques a cielo abierto a diferentes días, sin tener en cuenta los distintos tratamientos, induce diferencias significativas ($p < 0,05$) sobre los parámetros de

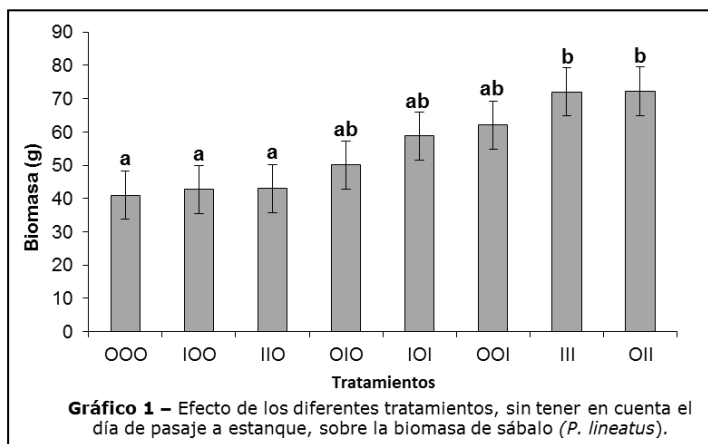


Gráfico 1 – Efecto de los diferentes tratamientos, sin tener en cuenta el día de pasaje a estanque, sobre la biomasa de sábalo (*P. lineatus*).

peso medio, largo y biomasa y no sobre los valores de sobrevivencia ($p > 0,05$). Los animales pasados a estanque en el día 5 de vida muestran valores de peso medio (4,51 g) y biomasa (62,88 g) significativamente superiores a los de aquellos pasados al día 15 de vida (2,5 y 45,26 g, respectivamente), mientras que los valores de los animales sacados a los 10 días de vida no muestran diferencias significativas con ninguno de los dos anteriores (3,67 y 57,51 g, respectivamente). Por otro lado la transferencia a estanques a los 5 (52 mm) y 10 (48,78 mm) días de vida incrementa significativamente el largo estándar de los animales respecto de aquellos transferidos al día 15 (40,74 mm) (**Gráfico 2a, 2b y 2c**).

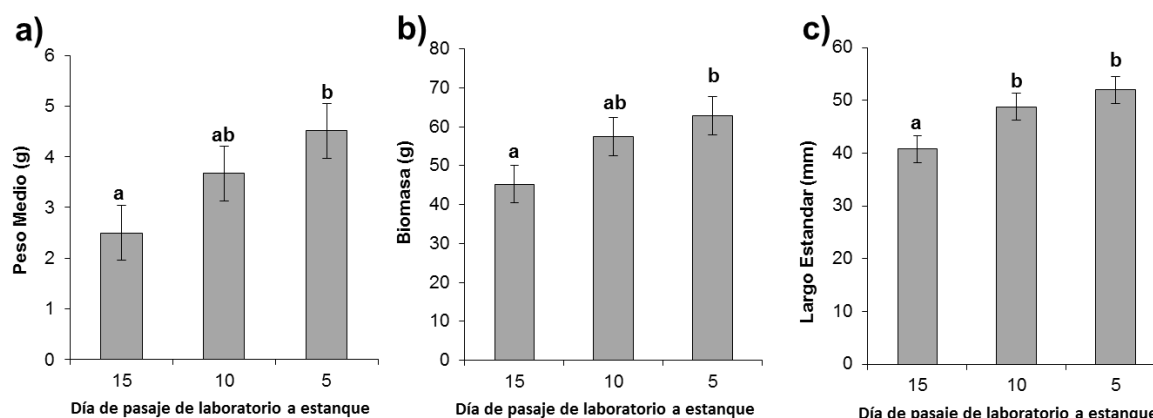
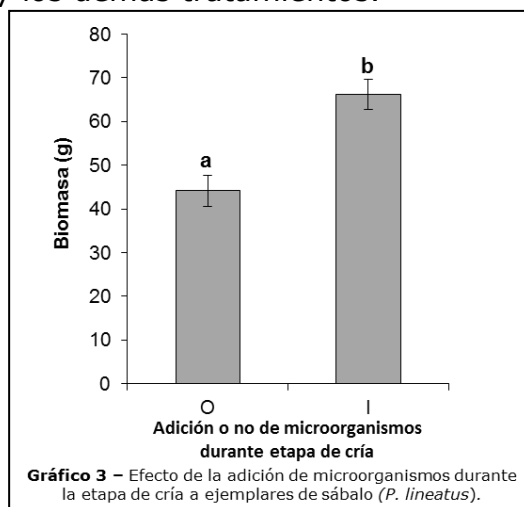


Gráfico 2 – Efecto del día de pasaje a estanque, sin tener en cuenta los diferentes tratamientos, sobre el peso medio (a), la biomasa (b) y el largo estándar (c) de sábalo (*P. lineatus*).

La única incorporación del probiótico que induce diferencias significativas es de forma conjunta con el alimento en estanques a cielo abierto, con incrementos en los valores de biomasa de 22,04 g, respecto al grupo control (**Gráfico 3**).

Finalmente, los únicos tratamientos, combinando día de pasaje de los animales y administración de microorganismos, que evidenciaron diferencias significativas fueron el de larvas pasadas a estanque el día 5 de vida con administración de mezcla probiótica en el agua y alimento balanceado (tratamiento 5OII) y el ensayo con animales pasados a estanque al día 5 de vida y administración de microorganismos en el alimento (tratamiento 5OOI), logrando un incremento significativo de la

biomasa respecto del tratamiento 5 IIO, pero sin diferencias significativas con el grupo control y los demás tratamientos.



Por lo tanto el tratamiento 5 OII permite alcanzar los mayores valores promedios de peso medio y biomasa, permitiendo seleccionarlo como el plan de administración del probiótico más adecuado (**Gráfico 4**).

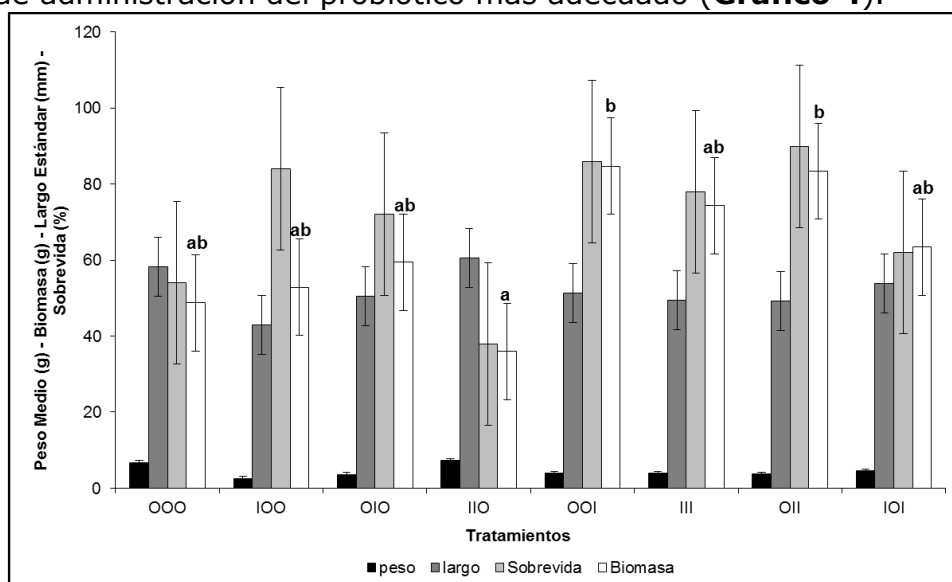


Gráfico 4 – Efecto de los tratamientos sobre el peso medio, la biomasa, el largo estándar y la sobrevivencia de sábalo (*P. lineatus*). Letras distintas indican diferencias significativas para la biomasa.

BIBLIOGRAFIA

- ¹Luchini, L., & Wicki, G. A. (2012). Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires (Argentina). Dirección de Acuicultura.
- ²Dirección de Acuicultura. Dirección Nacional de Planificación Pesquera. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura de la Nación (2014).
- ³Hernández Serrano P (2005) FAO Fisheries Technical Paper 469.
- ⁴FDA Food and Drug Administration (1998) Aquaculture Drugs. In: Fish and Fishery Products Hazards and Control Guide.
- ⁵FAO/NACA/WHO (1997) Joint Study Group. Food safety issues associated with products from aquaculture. WHO Technical Report Series, 799.
- ⁶EC (European Commission) (1996) Council directive 96/23/EC.
- ⁷Verschuere L, Rombaut G, Zorruelos P, Verstraete W (2000) Microbiol Mol Biol Rev.
- ⁸CONICET-UNNE (Universidad Nacional del Nordeste) (2013) Composición para mejorar la cría de peces de agua dulce y método de mejoramiento de la cría. Trámite n°: 20130103820.
- ⁹Guidoli MG (2015) Tesis doctoral – Doctorado en Ciencias Biológicas – Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia – Universidad Nacional de Tucumán.