

*Universidad Nacional del Nordeste*

Facultad de Ciencias Veterinaria

Corrientes – Argentina

**TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN  
MÓDULO DE INTENSIFICACIÓN PRÁCTICA**

**OPCIÓN:** PRODUCCIÓN ANIMAL.

**TEMA:** EVALUACIÓN DEL EFECTO SINÉRGICO ENTRE DOS CEPAS BENÉFICAS DE MOHO EN *Piaractus mesopotamicus* (PACÚ)

**TUTOR EXTERNO:** M.V. Mendoza, Jorge Arnaldo

**TUTOR INTERNO:** Dra. Boehringer, Silvia Irene

**Residente:** Morel, Héctor Omar

**e-mail:** morelomar411@gmail.com

**2022**

## ÍNDICE

RESUMEN .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
MATERIALES Y MÉTODOS .....	7
1. Preparación de mezclas probióticas para los ensayos in vivo.....	7
2. Animales y establecimientos.....	7
3. Unidades experimentales.....	7
4. Ensayo in vivo.....	7
5. Método.....	7
6. Medición de parámetros biométricos.....	8
7. Análisis estadístico.....	9
RESULTADOS.....	10
DISCUSIÓN .....	16
CONCLUSIÓN .....	18
BIBLIOGRAFÍA .....	19

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar, mediante ensayos *in vivo*, el efecto sinérgico entre las cepas *Aspergillus* sp. B6 y *Penicillium* sp. Z7 sobre los parámetros biométricos de juveniles de *Piaractus mesopotamicus*. A tal fin, ejemplares juveniles de pacú fueron alimentados con balanceado adicionado con: agua destilada estéril (*Tratamiento C*), células fúngicas viables de la cepa B6 *Aspergillus* sp. (*Tratamiento B*), células fúngicas viables de la cepa Z7 *Penicillium* sp. (*tratamiento Z*), y la combinación de los tratamientos B y Z (*Tratamiento M*). La supervivencia, peso medio, longitud, biomasa total producida y tasa de crecimiento específico se determinaron a los 12, 24, 36 y 48 días. Los resultados obtenidos indican que ninguno de los tratamientos afecta de forma significativa ( $p < 0,05$ ) los parámetros biométricos evaluados. En cuanto al peso medio en los días 24 y 36, el tratamiento M superó al control en un 2,32 y 3,28%. El tratamiento M demostró los mejores promedios de largo estándar, con excepción de la biometría final donde el control lo superó en un 0,4%. Al día 48, la biomasa total producida del tratamiento M fue superior al control en un 3,88%. Respecto a la tasa de crecimiento específico, al día 24 y 36, el tratamiento M mostró mayores valores superando al control en un 3,01 y 3,48%, respectivamente. En base a los resultados obtenidos, si bien no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, se presenta el tratamiento M como el que ha obtenido mejores resultados en la mayoría de los parámetros evaluados, proponiéndose que la combinación de las cepas B6 de *Aspergillus* sp. y Z7 de *Penicillium* sp. presentan un efecto sinérgico, sobre los parámetros biométricos de juveniles de *Piaractus mesopotamicus*.

## INTRODUCCIÓN

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la acuicultura consiste en el cultivo de organismos acuáticos tanto en zonas costeras como del interior, lo cual implica intervenciones en el proceso de cría para aumentar la producción (Carciofi y Rossi, 2021).

El incremento de la demanda mundial de productos pesqueros, junto con la sobreexplotación de la pesca de captura, llevó a que la producción acuícola mundial aumente de manera considerable, principalmente por la contribución de la acuicultura continental. Se proyecta que para el año 2030 esta última aportaría el 59% del consumo de pescado, que en 2018 fue del 46%, y el 53% de la producción pesquera mundial (FAO, 2020).

La necesidad de alimentar a una población mundial que va en aumento, así como de hacer frente a la creciente demanda de pescado, ejerce presión sobre los recursos naturales y amenaza la sostenibilidad de la pesca y del desarrollo de la acuicultura, estimulando así, a la constante búsqueda por hacer más eficientes las técnicas de producción (HLPE, 2014).

Argentina cuenta actualmente con dos polos destacados de producción acuícola. En la Patagonia norte se produce la Trucha (*Oncorhynchus mykiss*), mientras que la región Noreste se especializa en el Pacú (*Piaractus mesopotamicus*), siendo ambas las especies las de mayor representación en el total producido a nivel nacional y llegando a concentrar cerca del 87% del total en 2019 (MAGyP, 2020; Carciofi y Rossi, 2021).

El Pacú es una especie de pez nativa del río Paraná, que se adapta a los sistemas de producción piscícola en zonas de clima templado-cálido, con temporadas de crecimiento durante las épocas estivales (primavera-verano) (Pacic, 2010). Es de rápido crecimiento y su cría en cautiverio permite lograr alta intensidad de producción, se adecúa a sistemas de crianza en jaulas y estanques bajo sistemas semi-intensivos e intensivos, además presenta una fácil aceptación de alimento balanceado, permitiendo así la alimentación artificial (Corvalán et al., 2014).

El aumento de la población genera preocupación con respecto a la capacidad de los sistemas agroalimentarios para alimentar a un número cada vez mayor de personas (FAO, 2017). A su vez, estas tendencias llevan a un aumento en la demanda de alimentos, no solo en cantidad sino también en calidad, buscando no solamente la seguridad alimentaria sino también el consumo de alimentos funcionales o nutraceuticos, entre los cuales se puede considerar la carne del pacú por su elevada

proporción de ácidos grasos poliinsaturados como el omega 3, que ayuda a prevenir enfermedades cardiovasculares (Velloso et al., 2018). Sumado a lo anterior, los especialistas en peces enfrentan el desafío de formular alimentos que satisfagan los requisitos nutricionales de los animales, y asimismo que minimicen los costos de producción, limiten los impactos ambientales y mejoren la calidad del producto (Trushenski et al., 2006).

Estas condiciones han generado la búsqueda de alternativas que mejoren las técnicas de producción utilizadas.

Se han empleado antibióticos como factores de crecimiento para incrementar la productividad (Torres et al., 2002), asociados con disminuciones en la masa intestinal de los animales, mayor absorción intestinal de nutrientes y ahorro de energía. Esto da como resultado una reducción en el costo de los nutrientes para el mantenimiento y mejorando así la eficiencia del uso de los mismos (Hernández Serrano, 2005). Sin embargo, en la actualidad, diferentes organizaciones internacionales prohibieron su uso en animales destinados al consumo humano (EC, 1996; FAO/NACA/WHO, 1997; SOU, 1997; Hernández Serrano, 2005), requiriendo la búsqueda estrategias novedosas, económicas y más seguras para los consumidores y el medio ambiente. Es por ello, que surge como alternativa el uso de microorganismos y/o sus metabolitos para incrementar los parámetros biométricos, inmunológicos, entre otros (Roberfroid, 2000; Pandey et al., 2015).

Mediante intervenciones dietéticas, se logra incorporar diferentes moduladores de la microbiota donde se incluyen probióticos, prebióticos, simbióticos, y un nuevo elemento que son los postbióticos, algunos de los cuales están disponibles como aditivos, así como alimentos (Salminen et al., 2021).

Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped (Hill et al., 2014), mientras que un prebiótico es un sustrato que es utilizado selectivamente por los microorganismos del huésped que confieren un beneficio para la salud (Gibson et al., 2017). Un simbiótico, se ha definido como una mezcla que comprende microorganismos vivos y sustratos utilizados selectivamente por los microorganismos del huésped que confiere un beneficio para la salud del mismo (Swanson et al., 2020) y, recientemente, se ha incorporado el concepto de postbiótico siendo este un “preparado de microorganismos inanimados y/o sus componentes que confiere un beneficio para la salud del huésped” (Salminen et al., 2021).

Las bacterias, son el principal grupo microbiano que compone la mayor parte de los productos que contienen microorganismos (Casula y Cutting, 2002; Ljungh y Wadström, 2006; Cutting, 2011; Harzallah y Belhadj, 2013). Sin embargo, con el pasar del tiempo se ha incrementado el interés en el uso de hongos para la formulación de alimentos funcionales. Esto se debió no sólo a su capacidad de producir esporas resistentes a los procesos productivos y al tiempo de almacenamiento, sino también a las características químicas de su pared celular y su elevada capacidad de producir enzimas y metabolitos de interés (Perera y Li, 2011; Giavasis, 2014).

Partiendo de esto, géneros y especies reconocidas como seguras han demostrado resultados prometedores al incorporar en los alimentos el secretoma o conjunto de sustancias secretadas, el micelio o cuerpo del hongo en forma de extractos secos y/o suspensiones viables del microorganismo en forma de aditivos alimenticios, prebióticos y/o probióticos, respectivamente (Jun et al., 2011).

Otro aspecto a considerar, es que varios autores confirman que la administración de más de una cepa podría generar mayores beneficios por la complementación de propiedades beneficiosas o efecto sinérgico (De et al., 2014), enfatizando así el valor de los agentes simbióticos.

En el nordeste argentino no se registran antecedentes en el estudio y evaluación de productos probióticos en la cría de pacú. Esto motivó al grupo de investigación, dentro del cual se realizó el presente trabajo, a iniciar evaluaciones en esta área. La Cátedra de Microbiología y el Instituto de Ictiología del Nordeste (INICNE) de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), en cooperación con el Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CONICET) en la provincia de Tucumán, trabajan en conjunto desde hace más de una década.

Durante la ejecución del proyecto titulado “Probióticos en piscicultura: Aislamiento y evaluación de propiedades benéficas de levaduras pertenecientes a la microbiota intestinal”, el grupo de investigación seleccionó como potencial probiótico, por primera vez, una cepa de moho, aislado del tracto digestivo de *Piaractus mesopotamicus* e identificado como *Aureobasidium* sp., que mostró una elevada capacidad de producir peróxido de hidrógeno in vitro y permitió obtener resultados promisorios en los ensayos in vivo. La capacidad de este tipo de microorganismos, ya sea en forma viable (probióticos), sus extractos secos (prebióticos) o los productos de su metabolismo o secretoma (postbióticos) de incrementar los parámetros biométricos y/o inmunológicos en producción animal (Muramatsu et al., 2012) y vegetal (Mari et al., 2012) fue

establecida en forma experimental. Estas fueron las bases del proyecto actual “Mohos autóctonos, sus extractos secos y/o secretoma como probióticos o prebióticos en piscicultura”. En los primeros 20 meses de ejecución del proyecto se lograron aislar y evaluar la expresión de propiedades benéficas de un total de 25 cepas de mohos del tracto digestivo de peces nativos del NEA. Del total de cepas, 4 fueron seleccionadas como potencialmente benéficas por sus características: *Aspergillus* sp. B6, *Penicillium* sp. Z7, *Curvularia* sp. T1 y *Trichosporum* sp. NR. Las dos primeras fueron previamente evaluadas *in vivo*, determinando un mayor efecto benéfico sobre parámetros biométricos al administrar el moho vivo en forma conjunta con el alimento (probiótico). En base a lo antes citado, los resultados obtenidos en experiencias previas y con la hipótesis de que “las cepas fúngicas *Aspergillus* sp. B6 y *Penicillium* sp. Z7 tienen un efecto sinérgico al administrarse de forma conjunta en *Piaractus mesopotamicus*, incrementando parámetros biométricos” se propusieron los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Determinar, mediante ensayos *in vivo*, el efecto sinérgico entre las cepas *Aspergillus* sp. B6 y *Penicillium* sp. Z7 sobre los parámetros biométricos de juveniles de *Piaractus mesopotamicus*.

Objetivos particulares:

- Preparar alimentos balanceados adicionados con las suspensiones fúngicas y los controles correspondientes.
- Evaluar, mediante ensayos *in vivo*, el efecto de la administración de los alimentos adicionados con las suspensiones de mohos sobre parámetros biométricos de juveniles de *Piaractus mesopotamicus*.
- Analizar los datos obtenidos a fin de determinar si las cepas fúngicas presentan un efecto sinérgico al administrarse a los peces en forma conjunta.

Los ensayos del presente trabajo fueron realizados en las instalaciones del INICNE y de la cátedra de Microbiología de la Universidad Nacional del Nordeste en el periodo de verano 2021-2022.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluó el efecto sinérgico de ambas cepas fúngicas, al igual que su efecto por separado. Para ello, una vez que las cepas se encontraron activas y puras, se procedió a la preparación de alimentos balanceados adicionados con las suspensiones microbianas y los controles correspondientes.

### **1. Preparación de alimentos balanceados adicionados con las suspensiones microbianas correspondientes y los controles con agua destilada.**

Previa obtención de la biomasa microbiana en cantidad suficiente, se preparó el alimento balanceado necesario para 12 días, por lo que se realizó el procedimiento cuatro veces a lo largo del ensayo. El alimento balanceado comercial fue pesado y adicionado con: **a)** 10  $\mu$ L/g de agua destilada estéril (tratamiento C), **b)**  $1 \times 10^2$  UFC/g de células fúngicas viables de la cepa de *Aspergillus* sp. B6 diluidos en 10  $\mu$ L de agua destilada (tratamiento B), **c)**  $1 \times 10^2$  UFC/g de células fúngicas viables de la cepa de *Penicillium* sp. Z7 diluidos en 10  $\mu$ L de agua destilada (tratamiento Z) y **d)** la combinación de lo adicionado a los tratamientos B y Z (tratamiento M).

### **2. Ensayos *In vivo*.**

Se trabajó con un total de 96 ejemplares juveniles de *P. mesopotamicus* con un peso de entre 1 y 5 gramos. Los mismos se extrajeron mediante el paso de redes en los estanques disponibles en las instalaciones del INICNE.

Los animales fueron distribuidos en grupos de 6 ejemplares en 16 unidades experimentales conformadas por cajas de 70 L con aireación forzada y recambio de agua constante (**Imagen 1**). Durante un período de 5 días fueron alimentados con alimento balanceado comercial a saciedad, a fin de asegurarse una correcta aclimatación a las condiciones del ensayo.



**Imagen 1 – Unidades experimentales instaladas**

Luego del período de adaptación, las unidades experimentales se dividieron en 4 tratamientos -Control (C), *Aspergillus* sp. B6 (B), *Penicillium* sp. Z7 (Z), Mixto (M)- a los que se les administró el alimento balanceado correspondiente al 5% de la biomasa total y dividido en dos raciones diarias.

Al inicio del ensayo (día 0), se realizaron mediciones de largo estándar y peso medio de los ejemplares. Por otro lado, a los 12, 24, 36 y 48 días de ensayo, fueron determinados los parámetros biométricos de largo estándar, peso medio, supervivencia, biomasa total producida y tasa de crecimiento específico (TCE) (**Ecuación 1**). Las mediciones del largo estándar se llevaron a cabo con una regla milimetrada Hamilton modelo R10 y para determinar el peso de los animales se utilizó una Balanza digital PRECision TH-200 con resolución de 0,1g (**Imagen 2**).



**Imagen 2** – Pesaje y medición de los animales.

$$TCE = \frac{\ln P_f - \ln P_i}{t} \times 100$$

**Ecuación 1** – Tasa de crecimiento específico (TCE)%= Ln: logaritmo natural,  $P_f$ : peso final,  $P_i$ : peso inicial y  $t$ : tiempo en días.

### 3. Calidad de agua.

Los parámetros físicoquímicos del agua, fueron evaluados diariamente en todas las unidades experimentales (**Imagen 3**), utilizando los siguientes instrumentos:

- Temperatura (°C) y Oxígeno disuelto (mg/L) con equipo Lutron PDO-51.
- pH con un pH-metro digital Lutron PH-222.
- Conductividad (μS/cm) con equipo TDS y EC Digital.



**Imagen 3** – Medición de parámetros de calidad de agua

#### **4. Análisis estadístico.**

Cada tratamiento se realizó por cuadruplicado y fue asignado de acuerdo con un modelo completamente aleatorizado. Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA a una vía y los tests *pos hoc* correspondientes mediante el uso del programa Infostat.

#### **5. Determinación del efecto sinérgico entre ambas cepas.**

Se evaluó la existencia de diferencias positivas significativas entre los grupos control, administrado con la cepa *Aspergillus* sp. B6, con la cepa *Penicillium* sp. Z7 y con ambas cepas (mixto).

## RESULTADOS

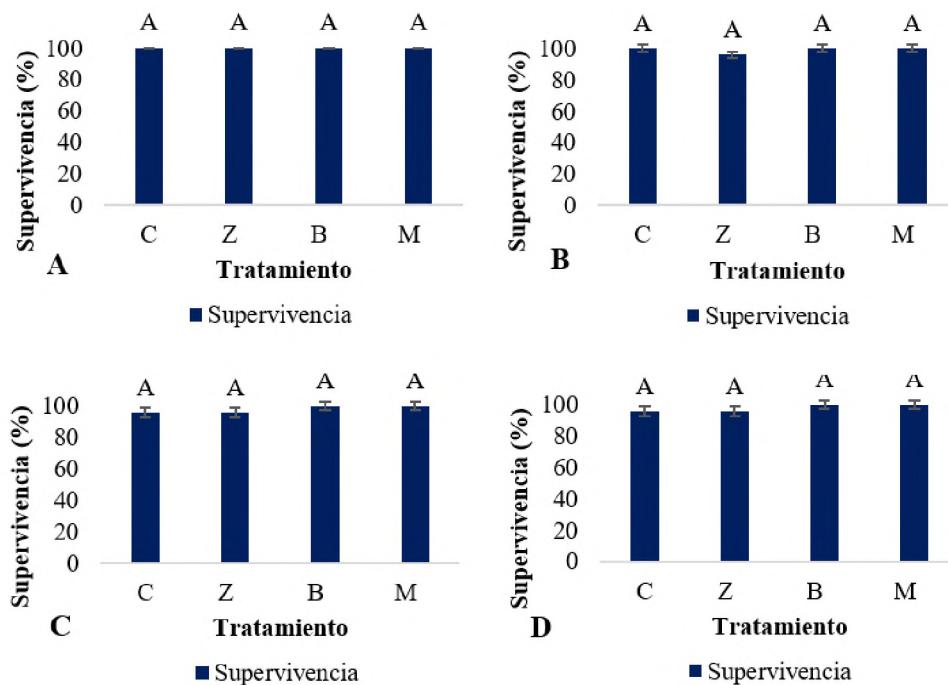
Los datos obtenidos del análisis de calidad de agua indican parámetros próximos a los recomendados para la especie por la bibliografía (**Tabla 1**).

**Tabla 1** – Promedios ± errores estándar de los datos obtenidos de calidad de agua a lo largo del ensayo en los respectivos tratamientos: Control (C), *Penicillium* sp. Z7 (Z), *Aspergillus* sp. B6 (B), Mixto (M).

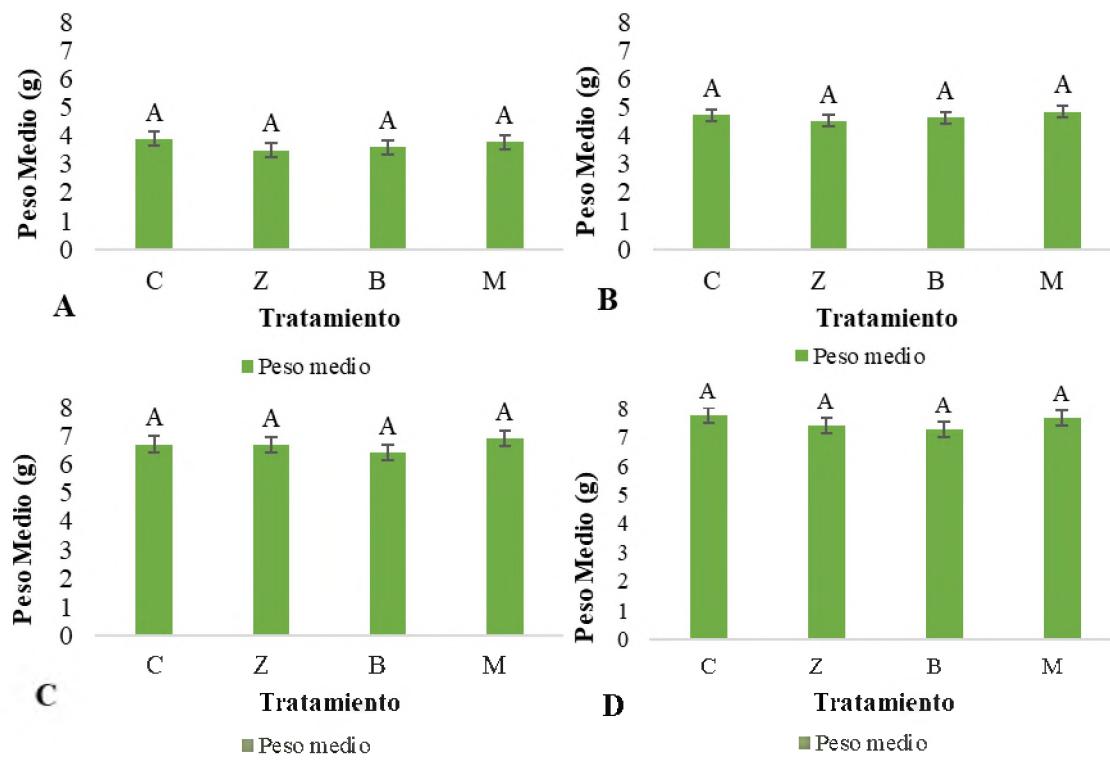
Tratamiento	Oxígeno disuelto (mg/L)	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (μS/cm)
C	5,67 ± 0,05	6,65 ± 0,02	27,08 ± 0,12	121,32 ± 0,45
Z	5,72 ± 0,05	6,73 ± 0,02	26,93 ± 0,12	121,27 ± 0,45
B	5,83 ± 0,05	6,82 ± 0,02	27,06 ± 0,12	121,42 ± 0,45
M	5,94 ± 0,05	7,01 ± 0,02	27,08 ± 0,12	121,30 ± 0,45

Los resultados registrados a lo largo de los 48 días de ensayo mostraron que los valores de los diferentes parámetros biométricos presentaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre sí ni respecto al control.

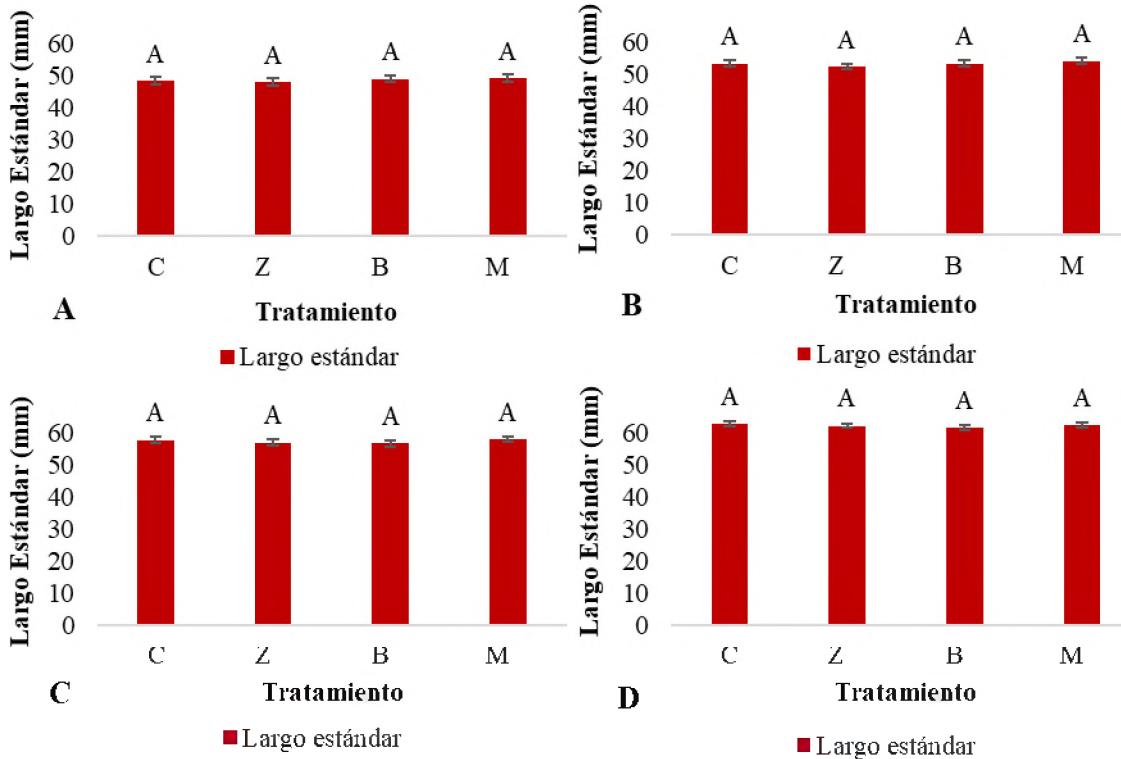
La supervivencia se mantuvo en 100% durante todo el ensayo en los grupos alimentados con la cepa *Aspergillus* sp. B6 (tratamiento B) y el tratamiento Mixto con ambas cepas (M). Por su parte, el tratamiento Z y C mostraron una sobrevida del 95,83% desde la segunda biometría (día 12 de ensayo) y el día 30 del ensayo, respectivamente. Ambas disminuciones se deben a la muerte de 1 animal en cada tratamiento, sin producirse más pérdidas de ejemplares hasta la finalización del mismo (**Gráfico 1**).



En cuanto al peso medio, los resultados fueron variables a lo largo del ensayo, no presentándose diferencia significativa entre los tratamientos. En la biometría del día 12, el grupo control fue superior que el Z en un 11,14%, que el B en un 8,06% y que el M en un 2,91%. Los valores del día 24 fueron mayores para el tratamiento M por sobre el tratamiento Z, B y C en un 7,06; 4,30 y 2,32%, respectivamente. Las mediciones del día 36 también mostraron valores superiores para el tratamiento M a razón de 7,79; 3,28 y 3,28% con respecto a los tratamientos B, Z y C, respectivamente. En la biometría final, luego de 48 días de ensayo, el grupo control fue el que mostró valores superiores con relación al B, Z y M con incrementos del 6,90; 4,73 y 0,91%, respectivamente (**Gráfico 2**).

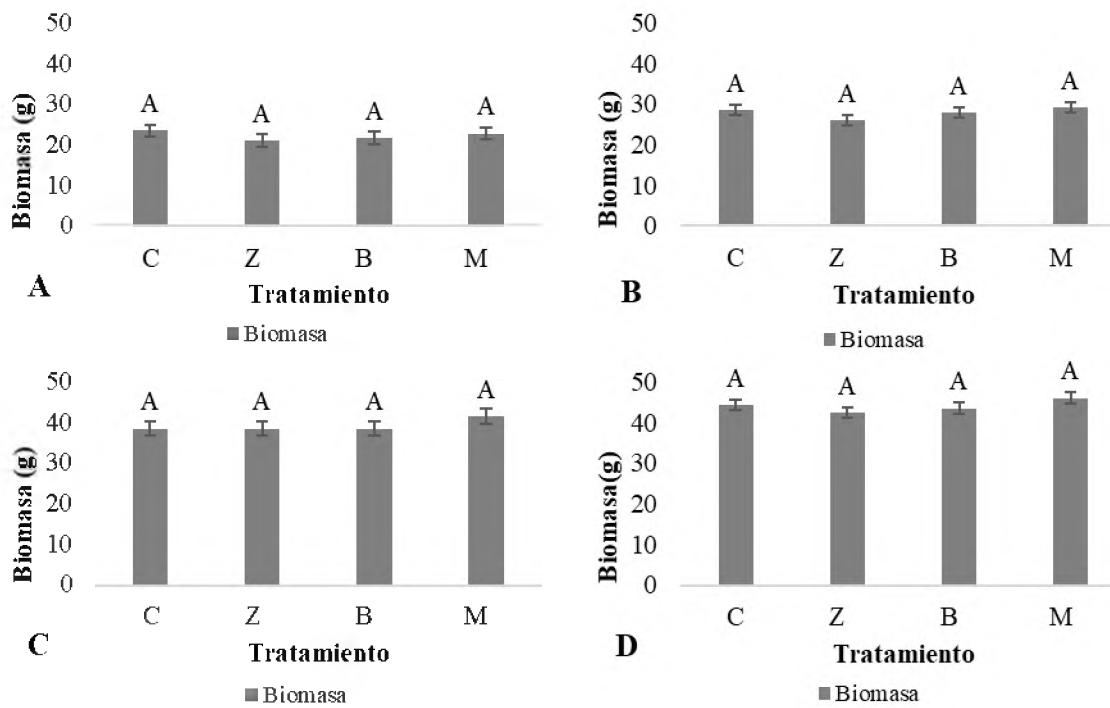


Los resultados del largo estándar tampoco evidenciaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ni con el control en todas las biometrías. Resultaron siempre mayores los datos obtenidos para el tratamiento M, superando al control en un 1,55; 1,40, 0,43% los días 12, 24 y 36 respectivamente, con excepción de la última biometría, donde el Control superó levemente a ese tratamiento en un 0,4%. Además, al día 12 el B superó al Control en un 1,03% y al día 24 lo igualó, resultando ambos tratamientos superiores al Z. En cambio, el día 36 y 48 el Z superó al B en un 0,44 y 1,22 % respectivamente, pero sin alcanzar los largos estándar de los tratamientos Control y M (**Gráfico 3**).

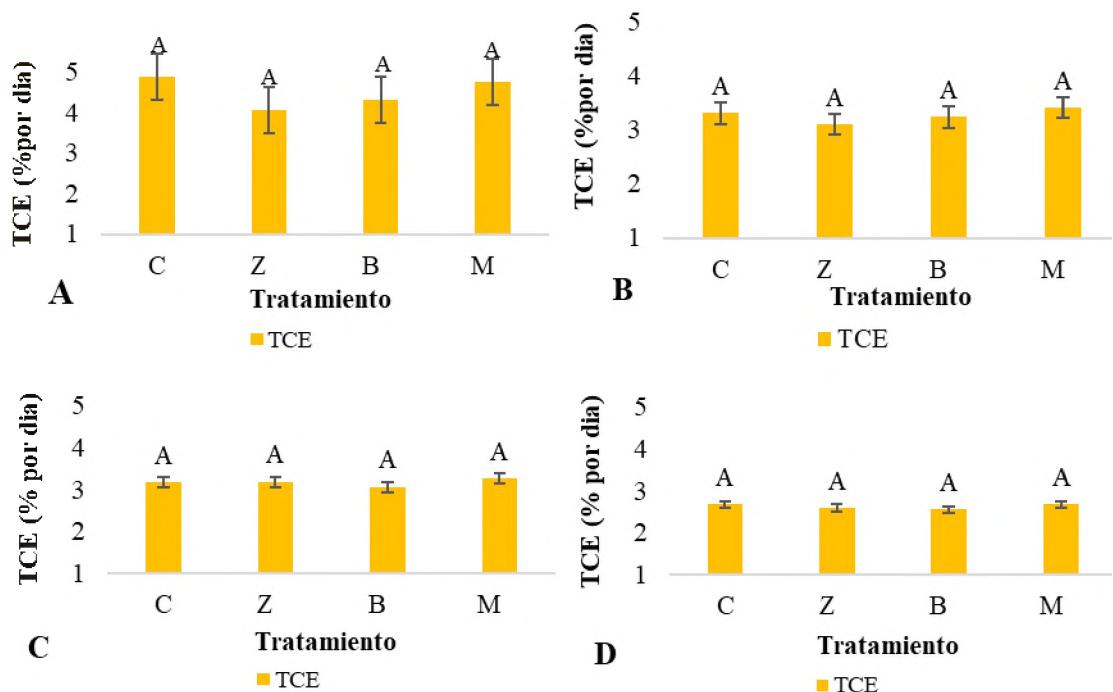


**Gráfico 3** – Largo estándar de juveniles de *P. mesopotamicus* a los 12 (A), 24 (B), 36 (C) y 48 (D) días de ensayo, alimentados con: balanceado con agua (C), cepa de *Penicillium* sp. Z7 (Z), cepa de *Aspergillus* sp. B6 (B) y mixto de ambas cepas (M). Las barras verticales indican Error Estándar y letras distintas indican diferencias significativas.

Los resultados de biomasa total producida en la biometría del día 12 presentan valores superiores para el grupo control con respecto al Z, B y M en un 11,10; 8,11 y 2,87% respectivamente. Por otra parte, los datos de los días 24, 36 y 48 muestran los mayores valores para el tratamiento M, siendo el único que supero al control en un 2,21; 7,79 y 3,88% en los 3 momentos, respectivamente (**Grafico 4**).



La TCE mostró valores variables a lo largo del ensayo, pero sin generar diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. En la primera biometría los tratamientos Z, B y M fueron superados por el control en un 20,69; 13,16 y 2,73%, respectivamente. Los resultados al día 24 y 36 mostraron superior al tratamiento M por sobre los demás, superando al control en un 3,01 y 3,48%, respectivamente en ambas biometrías. Finalmente, en el día 48 el grupo control obtuvo datos por encima de los tratamientos B, Z y M en un 5,10; 3,47 y 0,37%, respectivamente (**Gráfico 5**).



**Gráfico 5** – Tasa de Crecimiento Efectiva (TCE) de juveniles de *P. mesopotamicus* a los 12 (A), 24 (B), 36 (C) y 48 (D) días de ensayo, alimentados con: balanceado con agua (C), cepa de *Penicillium* sp. Z7 (Z), cepa de *Aspergillus* sp. B6 (B) y mixto de ambas cepas (M). Las barras verticales indican Error Estándar y letras distintas indican diferencias significativas.

## DISCUSIÓN

En el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas sobre los parámetros biométricos en los juveniles de pacú alimentados con suspensiones de mohos y su respectivo control. El tratamiento probiótico propuesto en este trabajo se formuló a partir de resultados obtenidos previamente de pruebas *in vivo*, basado en la idea de que los productos probióticos autóctonos de múltiples cepas podrían generar mayores beneficios mediante la complementación de propiedades beneficiosas (De et al., 2014).

En primer lugar, es necesario recalcar que la actividad de los probióticos es menos consistente que la de los Antibióticos Promotores de Crecimiento (APC), de tal forma que el mismo producto puede producir resultados variables, y existen estudios en los que no se ha observado ningún efecto (Gunal et al., 2006).

Además de lo anterior, es importante tener en cuenta que los beneficios derivados de los APC al igual que los probióticos parecen más evidentes cuanto las condiciones higiénico-sanitarias de la cría industrial no son las ideales, reflejadas en términos de instalaciones, manejo o estado sanitario de los animales (Prescott y Baggot, 1993). A medida que esas condiciones mejoran, el efecto de estos promotores disminuye. Ensayos realizados por Lin (2011) ya han demostrado ese hecho en ambientes controlados de laboratorio con estrictas condiciones higiénicas.

En el trabajo se manifestaron diferencias, aunque no significativas, en la supervivencia de los animales sometidos a los distintos tratamientos similar a lo demostrado por Vendrell et al. (2008) donde analizaron el efecto de la suplementación con probióticos en trucha arcoíris obteniendo un aumento en la supervivencia de los peces, la cual fue del 22% en el control y del 50% en los grupos suplementados con probióticos. Además, coincide con lo planteado por Das et al. (2017) quienes indicaron que el uso de probióticos mejora la supervivencia de los organismos acuáticos cultivados.

En base a la supervivencia obtenida, se deduce que los animales respondieron bien al suministro del alimento con probióticos, sin embargo, el análisis de varianza indica que no existen diferencias significativas entre tratamientos con el 95% confianza en cuanto a los parámetros biométricos evaluados, hecho similar a lo obtenido por Benavides et al. (2016) que valoraron el efecto probiótico en la alimentación de alevines de *Piaractus brachypomus* sin obtener diferencias con los respectivos controles. Distinto es lo manifestado por otros autores, que sí observaron aumentos significativos en el

crecimiento y ganancia de peso en otras especies acuáticas, tal como fue reportado por Lara et al. (2002), Flores et al. (2002), Guevara et al. (2003), El-Haroun et al. (2006) y López y Cruz (2011). En estos estudios concluyeron que la adición de probióticos en las dietas mejora el crecimiento de especies ícticas tropicales, en base a trabajos realizados adicionando probióticos a base de bacterias y levaduras al alimento para tilapia roja (*Oreochromis niloticus*).

Por otro lado, varios estudios llevados a cabo en juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* bajo efecto probiótico, demostraron que la combinación de cepas probióticas produce un efecto sinérgico y tiende a generar mejores resultados que las cepas probióticas individuales (Bernal et al., 2017; Wang et al., 2019). Esto, a pesar de no ser demostrado con resultados significativos, se condice con las diferencias en los datos encontradas en el tratamiento Mixto comparado a los rendimientos del tratamiento B (*Aspergillus* sp. B6) y el Z (*Penicillium* sp. Z7) de manera independiente. Este comportamiento ya fue descripto en trabajos realizados por Verschuere et al. (2000) y Hai et al. (2009) donde se ha observado que los probióticos basados en una sola cepa son menos efectivos que aquellos basados en variedades mixtas.

En cuanto a la TCE, se puede decir que resulta útil para comparar crecimientos en períodos de tiempo relativamente cortos (Engrola et al., 2007). Al igual que Chafloque Valuis y Choquehuanca Cortez (2018), quienes vieron el efecto de *Lactobacillus* sp. y *Saccharomyces cerevisiae* como suplemento en dietas sobre el crecimiento y supervivencia de alevines de *P. brachypomus* en laboratorio, en todos los tratamientos se observa un mayor incremento de la TCE en los primeros 12 días y hacia el día 48, observándose un comportamiento descendente de los tratamientos. Esto fue explicado por López (2005) que trabajó con trucha arcoíris (*O. mykiss*), ya que en la etapa de alevinaje la microbiota intestinal de pez tiene más predisposición a ser colonizada, siendo el medio beneficiario para la fijación de microorganismos benéficos en el sistema digestivo, influyendo positivamente en la TCE.

## CONCLUSIÓN Y PROYECCIONES

En base a los resultados de los distintos parámetros biométricos estudiados: tasa de crecimiento específico, biomasa, peso medio y largo estándar, y si bien ninguno de los diferentes tratamientos analizados en este ensayo evidenció diferencias significativas respecto del control, analizando los mayores promedios se observa la superioridad del compuesto mixto formado por la mezcla de los mohos ensayados. Por lo tanto se propone al tratamiento M, en el cual se alimentó a los animales con balanceado adicionado con una dosis de  $1 \times 10^2$  UFC/g de la cepa B6 del moho *Aspergillus sp.*, y con una dosis de  $1 \times 10^2$  UFC/g de células fúngicas viables de la cepa Z7 del moho *Penicillium sp.*, como el tratamiento con mejores resultados. Sugiriendo su inclusión en forma de probiótico en raciones balanceadas para *P. mesopotamicus*.

A manera de proyecciones se propone:

- a.** Realizar ensayos *in vivo*, para evaluar el efecto de los demás mohos aislados en el proyecto marco en el que se encuadra este trabajo.
- b.** Evaluar diferentes combinaciones entre el moho empleado en este trabajo y los próximos a estudiar ya que podría existir un efecto sinérgico al administrar combinaciones de dos o más microorganismos.

## BIBLIOGRAFÍA

- BENAVIDES-ROERO, S., CASTRO, M., DELGADO-ROJAS, A., GUERRERO, C., SANGUINO, W. R. 2016. Efecto de un probiótico, aplicado en el alimento para alevines de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomu*). Memorias del VII Congreso Colombiano de Acuicultura. Revista Investigacion Pecuaria 2016; suplemento:147-148.
- BERNAL, M. G., MARRERO, R. M., CAMPA CÓRDOVA, A. I., MAZÓN SUÁSTEGUI, J. M. 2017. Efecto probiótico de cepas de *Streptomyces* solas o en combinación con *Bacillus* y *Lactobacillus* en juveniles de camarón *blanco Litopenaeus vannamei*. Aquac Int, 25(2), 927-939.
- CARCIOFI, I. Y ROSSI, L. 2021. Acuicultura en Argentina: red de actores, procesos de producción y espacios para el agregado de valor. En búsqueda del impulso exportador para los productos acuícolas. Consejo para el Cambio Estructural. Ministerio de Desarrollo Productivo de la Nación.
- CASULA, G., CUTTING, S. 2002. Bacillus Probiotics: Spore Germination in the Gastrointestinal Tract. Appl Environ Microbiol, 68(5), 2344-2352.
- CHAFLIQUE VALUIS, V. L. Y CHOQUEHUANCA CORTEZ, W. A. 2018. Efecto de *Lactobacillus* sp y *Saccharomyces cerevisiae*, como suplemento en dietas, sobre el crecimiento y supervivencia de alevines de *Piaractus brachypomus* en laboratorio. Tesis de grado, Universidad Nacional del Santa. Facultad de Ciencias. Nuevo Chimbote, Perú. 42p.
- CORVALÁN, C.; ROSELLÓ, R.; SUÁREZ, M; MITCHELL, C. 2014. Manual de procedimientos para el engorde de pacú. Acuicultura de la provincia de Santa Fe.
- CUTTING, S. M. 2011. Bacillus probiotics. Food Microbiol, 28, 214-220.
- DAS, S., MONDAL, K., HAQUE, S. 2017. A review on application of probiotic, prebiotic an synbiotic for sustainable development of aquaculture. Journal of entomology and zology studies, 5(2), 422-429.
- DE, B. C., MEENA, D. K., BEHERA, B. K., DAS, P., MOHAPATRA, P. K. D., SHARMA, A. P. 2014. Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. Fish Physiol Biochem 40, 921–971.
- EC (European Commission). 1996. Council directive 96/23/EC on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products and repealing. (<http://cemu10.fmv.ulg.ac.be/ostc/9623/9623EC.htm>).
- EL-HAROUN, E. R., GODA, A. M., KABIR CHOWDHURY, M. A. 2006. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth

- performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquac, 37(14), 1473-1480.
- ENGROLA, S., CONCEIÇÃO, L., DIAS, L., PEREIRA, R., RIBEIRO, L. & DINIS, M. 2007. Improving weaning strategies for Senegalese sole: effects of body weight and digestive capacity. Aquaculture Res, (38), 696-707.
- FAO. 2017. The future of food and agriculture – Trends and challenges. Rome
- FAO. 2020. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. Roma.
- FAO/NACA/WHO. 1997. Joint Study Group. Food safety issues associated with products from aquaculture. WHO Technical Report Series, 799.
- FLORES, M. L., BRIONES, L. E., NOVOA, M. A. 2002. Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). Av en Nutr acu Memorias del Simp Int Nutr Acu, (6), 314-335.
- GIAVASIS, I. 2014. Bioactive fungal polysaccharides as potential functional ingredients in food and nutraceuticals. Curren Opinions in Biotechnology, 26, 162-173.
- GIBSON, G. R., HUTKINS, R., SANDERS, M. E., PRESCOTT, S. L., REIMER, R. A., SALMINEN, S. J., SCOTT, K., STANTON, C., SWANSON, K. S., CANI, P. D., VERBEKE, K., REID, G. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 14, 491–502.
- GUEVARA J, MATEUS R, QUINTERO L. 2003. Evaluación de la utilización de probióticos en la fase de levante del ciclo de producción de la Mojarra roja (*Oreochromis* sp.), Universidad Nacional de Colombia.
- GUNAL, M., YAYLI, G., KAYA, O., KARAHAN, N., SULAK, O. 2006. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. Int J Poult Sci, (5), 149-55.
- HAI, N. V., BULLER, N. & FOTEDAR, R. 2009. Effects of probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the growth, survival and immune parameters of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). Aquatic Research, (40), 590-602.
- HARZALLAH, D. Y BELHADJ, H. 2013. Lactic Acid Bacteria as Probiotics: Characteristics, Selection Criteria and Role in Immunomodulation of Human GI Mucosal Barrier. En: Lactic Acid Bacteria.
- HERNÁNDEZ SERRANO, P. 2005. FAO. Fisheries Technical Paper. 469.

- HILL, C., GUARNER, F., REID, G., GIBSON G. R., MERENSTEIN, D. J., POT, B., MORELLI, L., BERNI CANANI, R., FLINT, H. J., SALMINEN, S., CALDER, P. C., SANDERS, M. E. 2014. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 11, 506–514.
- HLPE. 2014. La pesca y la acuicultura sostenibles para la seguridad alimentaria y la nutrición. Un informe del Grupo de alto nivel de expertos en seguridad alimentaria y nutrición del Comité de Seguridad Alimentaria Mundial, Roma.
- JUN, H., KIESELBACH, T., JONSSON, L. J. 2011. Enzyme production by filamentous fungi: analysis of the secretome of *Trichoderma reesei* growth on unconventional carbon source. *Microbial cell factories*, 10, 68.
- LARA FLORES, M., OLVERA NOVOA, M. A., GUZMÁN MÉNDEZ, B. E., LÓPEZ MADRID, W. 2002. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, (216), 193-201.
- LIN, J. 2011. Effect of antibiotic growth promoters on intestinal microbiota in food animals: a novel model for studying the relationship between gut microbiota and human obesity? *Front Microbiol*, (2), 53.
- LJUNGH, A., WADSTRÖM, T. 2006. Lactic acid bacteria as probiotics. *Curr Issues Intest Microbiol*, 7(2), 73-89.
- LOPEZ, B. R., Y CRUZ, L. A. 2011. Elaboración De Un Probiótico A Base De Microorganismos Nativos Y Evaluación De Su Efecto Benéfico Al Proceso Digestivo De La Tilapia Roja (*Oreochromis* Spp.) En Etapa De Engorde En La Zona De Santo Domingo. (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4857/1/T-ESPE-IASA%20II002358.pdf>
- LÓPEZ, J. 2005. Evaluación de inmunoestimulantes en las fases de levante y ceba de trucha arcoiris (*O. mykiss*) cultivada en jaulas flotantes en el Lago Guamuéz. Vicerrectoría de Investigaciones Postgrados y Relaciones Internacionales. Sistema Investigaciones. Pasto, Colombia. 6p.
- MARI, M., MARTINI, C., GUIDARELLI, M., NERI, F. 2012. Postharvest biocontrol of *Monilinia laxa*, *Monilinia fructicola* and *Monilinia fructigena* on stone fruit by two *Aureobasidium pullulans* strains. *Biol Control*, 60(2), 132-140.
- MAGyP (Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca). 2020. Producción de Acuicultura destinada al consumo humano en Argentina durante el año 2019.

- MURAMATSU, D., IWAI, A., AOKI, S., UCHIYAMA, H., KAWAT,A K., NAKAYAMA, Y., NIKAWA, Y., KUSANO, K., OKABE, M., MIYAZAKI, T. 2012.  $\beta$ -Glucan Derived from *Aureobasidium pullulans* Is Effective for the Prevention of Influenza in Mice. *PLoS ONE* 7(7): e41399.
- PACIC, A. 2010. Cría de pacú en cautiverio. INTA
- PANDEY, K.; NAIK, S.; VAKIL, B. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *Journal of food science and technology*, 52(12), 7577-7587.
- PERERA, P. K., LI, Y. 2011. Mushrooms as a functional food mediator in Preventing and ameliorating diabetes. *Functional Food Health and Disease*, 4,161-171.
- PRESCOTT, J. F, BAGGOT, J. D. 1993. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 2nd edition, Ames: Iowa State üniversity Press, 564-65.
- ROBERFROID, M. B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr*, 71(S):1682S–1687S.
- SALMINEN, S., COLLADO, M. C., ENDO, A., HILL, C., LEBEER, S., QUIGLEY, E. M. M., SANDERS, M. E., SHAMIR, R., SWANN, J. R., SZAJEWSKA, H., VINDEROLA, G. 2021. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 18, 649–667.
- SOU (Statens Offentliga Utredningar-National Public Investigations from Sweden). 1997. Toxicological and related effects of antibacterial feed aditivies. Document N° 1997:132.
- SWANSON, K. S., GIBSON, G. R., HUTKINS, R., REIMER, R. A., REID, G., VERBEKE, K., SCOTT, K. P., HOLSCHER, H. D., AZAD, M. B., DELZENNE, N. M., SANDERS, M. E. 2020. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*, 17, 687–701.
- TORRES, C. Y ZARAZAGA, M. 2002. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por el buen camino?. *Gaceta Sanitaria*, 16(2), 109-112.
- TRUSHENSKI, J., KASPER C. S., KOHLER C. C. 2006. Challenges and Opportunities in Finfish Nutrition, *North American Journal of Aquaculture*, 68(2), 122-140. DOI: 10.1577/A05-006.1
- VELLOSO, P., MONTENEGRO, L., PLANAS, M. 2018. Análisis FODA de la Producción de Pacú (*Pyaractus mesopotamicus*) en Argentina: Perspectivas a futuro.

Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ, 5(2), 34-44.

-VENDRELL, D., BALCÁZAR, J. L., DE BLAS, I., RUIZ-ZARZUELA, I., GIRONÉS, O., MÚZQUIZ, J. L. 2008. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from lactococcosis by probiotic bacteria. Comparative, Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, (31), 337-345. DOI:10.1016/j.cimid.2007.04.002

-VERSCHUERE, L., ROMBAUT, G., SORGELOOS, P. Y VERSTRAETE, W. 2000. Bacterias probióticas como agentes de control biológico en acuicultura. Revisiones de microbiología y biología molecular: MMBR, 64(4), 655-671. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000>

-WANG, Y. C., HU, S. Y., CHIU, C. S., LIU, C. H. 2019. Los probióticos de múltiples cepas parecen ser más efectivos para mejorar el rendimiento del crecimiento y el estado de salud del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, que las cepas probióticas individuales . Pescado Mariscos Immunol, (84), 1050-1058.