

EFICACIA DE PROBIÓTICOS EN EL CULTIVO DE LARVAS DEL CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) EN LABORATORIO, EN JAMA, ECUADOR

PROBIOTICS EFFECTIVENESS IN LARVAL CULTURE OF SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) IN LABORATORY, IN JAMA, ECUADOR

Hebert Édison Vera-Delgado¹, Cristian Gonzalo Vera-Baque¹,
Nestor Cuadrado-Rodríguez¹, Ítalo Pedro Bello-Moreira¹

Universidad Laica "Eloy Alfaro de Manabí", Facultad de Ciencias Agropecuarias, Manta – Manabí – Ecuador.

*Autor para correspondencia: hebert.v.d@hotmail.com; hebert.vera@uleam.edu.ec

RESUMEN

La investigación se realizó en laboratorio con el objetivo de contribuir a mejorar la productividad en la etapa inicial de crianza de larvas del camarón (*Litopenaeus vannamei*) mediante probióticos de reciente introducción, para buscar alternativas al uso de antibióticos que según la OMS y FAO ocasionan efectos colaterales en la salud humana. En el estudio, realizado en la localidad de Jama, Manabí, Ecuador se determinó que las larvas reaccionaron positivamente al mejor tratamiento resultado de la mezcla de los probióticos: Epicin 3W, + Epicin Normal, + Epicin Norma I, – Ecopro IV, en dosis de 16, 18 y 24 + 6 g/Tm que fueron aplicados secuencialmente en los estadios de Nauplios 5 – Z1, m2 – m3 y P1 – p10, mismos que produjeron sobrevivencias de 94.9 %, crecimiento de larvas en longitud de 4.8 mm y Tasa de

Retorno Marginal del 578%, el segundo mejor tratamiento fue cuando se aplicaron dosis menores con tasa de retorno marginal de 373%.

Palabras clave: Antibióticos, camarón, prebióticos, mancha blanca, inmunológico, retorno marginal.

ABSTRACT

The research was conducted in laboratory conditions with the aim of contributing to improving productivity in the initial stage of larval rearing shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by paragraph introduction probiotics recent search for alternatives to antibiotics according to WHO and FAO cause collateral effects on human health. In the study, conducted in the town of Jama, Manabí, Ecuador, was determined

that larvae reacted positively to better treatment which was the result of the mixture of the probiotics: Epicin 3W + normal Epicin, normal Epicin +, - Ecopro IV, in dose of 16, 18 and 24 + 6 g/t, that were sequentially applied in nauplius stadium 5 - Z1, m2 - m3 and P1 - p10, same as occurred survival of 94.9%, growth in length of larvae of 4.8 mm and marginal return rate of 578 %. The second best treatment was when lower doses were applied with marginal rate of return of 373 %.

Key words: *Shrimp, white spot, antibiotics, probiotics, immune, marginal return.*

INTRODUCCIÓN

El camarón (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) es en las últimas décadas la especie marina de mayor relevancia debido a la creciente demanda de alimentos acuáticos, siendo el sector productivo de más rápido crecimiento que aporta el 50% de la producción de pescado en el mundo, reportada en 1'360,000 tm, del cual Ecuador es el mayor productor en cautiverio del hemisferio occidental y el segundo a escala mundial, después de Tailandia con 59.9% (FAO, s.f). El 96% de la producción camaronera ecuatoriana proviene del cultivo y el 4% de la pesca artesanal (Bayot, 1998).

Antes de la presencia del virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV por sus siglas en inglés) en el año 1998, Ecuador produjo más de 252 millones de libras de camarón, lo cual representó un ingreso de 900 millones de dólares, generando aproximadamente un millón 200 mil puestos de trabajo (Aguayo et al., 2009).

El rendimiento del cultivo en aquella época fue de 2 000 libras/ha y la supervivencia de los camarones alcanzaba entre 55% y 60%, sin embargo estas cifras cayeron drásticamente a partir de la presencia clínica de WSSV, con supervivencias que no lograban superar el 10% y rendimientos de 400 libras/ha. El virus provocó el colapso en la industria

camaronera (PRONACA, 2011). Diversas medidas se tomaron para mitigar las pérdidas económicas y controlar el virus.

Una de las alternativas de control es el uso de bacterias probióticas, que son microorganismo vivos, administrados como suplementos en la dieta que modifican la microbiota asociada al tracto gastrointestinal del hospedero y generan efectos benéficos como incrementos en la conversión alimenticia, resistencia de enfermedades y de la calidad del agua (FAO, 2009).

Este mismo autor corporativo, indica que durante la última década, su aplicación en el cultivo de camarón es frecuente ya que han surgido nuevos productos comerciales y se han publicado artículos científicos que evalúan su uso, sin embargo, es evidente que faltan estudios para entender los mecanismos de acción, establecer protocolos de aplicación considerando factores críticos como etapa de cultivo, densidad de siembra, dosis en relación a la defensa inmunitaria, entre otros.

En Ecuador las estrategias para disminuir la incidencia del WSSV se enfocan en el manejo de la salud mediante el uso de probióticos que estimulan el sistema inmune y contribuyen al equilibrio de la flora bacteriana del camarón tanto en las fases de larva como en la de engorde (Aguayo et al., 2009). En acuicultura el uso de probióticos para controlar patógenos por procesos competitivos sustituye paulatinamente a los antibióticos, las bacterias más utilizadas son: *Bacillus sp*, *Enterococcus sp* y *Lactobacillus sp* (FAO, 2009).

Al respecto, Alfonso et al. (1998) determinaron que los probióticos tienen acción beneficiosa sobre la calidad del agua y consecuentemente sobre la supervivencia, calidad y crecimiento de las larvas, con tallas que oscilan entre 4.14 a 4.36 mm.

En este contexto, el objetivo de esta investigación fue evaluar probióticos en larvas de camarón criadas en laboratorio con

el fin de mejorar la producción y productividad del crustáceo.

- Números de repeticiones: Tres repeticiones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación. La investigación se realizó en un laboratorio ubicado, en el sitio Don Juan a nueve kilómetros del cantón Jama, Manabí, en las coordenadas: latitud 0°7'15" y longitud W 80°13'07", a 10 msnm, ejecutado en los meses de febrero y marzo de 2011.

Variables en estudio. Larvas de camarón (*L. vannamei*) alimentadas con probióticos según el avance de los estadios. Los probióticos son:

Epicin 3W
Epicin normal
Epicin Normal – Ecopro IV

PROCEDIMIENTOS

Características de las unidades experimentales:

- Numero de tanques: 12
- Volumen de tanques: 11 tm
- Volumen útil por tanque: 10 tm
- Forma del tanque: rectangular
- Densidad de siembra: 668 nauplios/litro
- Cantidad de nauplios/por tanques: 2'340 000
- Total de nauplios en el ensayo: 28'080 000

Preparación de tanques para recibir nauplios

- Temperatura: 30°C
- Salinidad: 30 ppm
- pH: 8
- Oxígeno: 5 ppm

Diseño Experimental

- Tipo: Diseño completamente al azar (D.C.A.)

Análisis Estadísticos

Esquema del análisis de varianza (ADEVA)

Fuentes variación	Grados de Libertad
Total	29
Tratamientos	9
Error	20

Prueba de significación, Tukey al 5%

- Coeficiente de variación (%)

$$CV = \frac{S_x}{\bar{X}} \cdot 100$$

Datos analizados estadísticamente

- Porcentaje de supervivencia. Se estableció contando nauplios con un estereomicroscopio relacionado valores antes y después de aplicados los tratamientos.
- Longitud de larvas. Para este indicador se utilizó una regla graduada en milímetros, observando las longitudes en el estereomicroscopio.

Estudio económico de los tratamientos

Se utilizó el Cálculo del Presupuesto Parcial, según Metodología del CIMMYT (1988), considerando costos variables y beneficios netos de cada tratamiento. Luego se realizó el análisis de dominancia priorizando tratamientos con costos variables y beneficios netos altos y, finalmente la tasa de retorno marginal (TRM).

Cuadro 1. Tratamientos del estudio: Eficacia de probióticos en cultivo de larvas del camarón (*L. vannamei*) en laboratorio.

Nº	Mezclas de Probióticos	Tratamientos	
		Dosis (g/tm)	Aplicaciones por estadíos
1	Epicin 3W	8	Nauplio5 – z1 – z2 – z3 – m1
	+ Epicin Normal	9	m2 – m3
	+Epicin Normal + Ecopro IV	12 + 3	p1 – p10
2	Epicin3W	12	Nauplio5 – z1 – z2 – z3 – m1
	+EpicinNormal	13	m2 – m3
	+Epicin Normal +Ecopro IV	16 + 4.5	p1 – p10
3	Epicin 3W	16	Nauplio5 – z1 – z2 – z3 – m1
	+Epicin Normal	18	m2 – m3
	+Epicin Normal +Ecopro IV	24 + 6	p1 – p10
4	Testigo, sin aplicación	-	-

MANEJO DEL EXPERIMENTO

- Material de siembra: Se utilizaron nauplios de *L. vannamei* con tamaños homogenizados.
- Siembra en tanques de crías: Una vez aclimatados los tanques respecto a temperatura, pH, salinidad y oxígeno se procedió a la siembra de 2'340 000 nauplios/tanque con un peso promedio de 0,0001 g.
- Alimentación con algas: Se colocaron algas, thalaseas una vez que los nauplios entraron en estadio 5 el cual se encontraba listo para cambiar a Zoea 1. Se continuó colocando algas de acuerdo a las necesidades de alimentación.
- Aplicación de químicos: Se aplicó Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y vitamina C.
- Aumento de temperatura: Se utilizó calefón para aumentar la temperatura a 34 °C porque es necesario para el cambio de metamorfosis.
- Utilización de probióticos: Se aplicaron desde el nauplio 5 hasta la cosecha.
- Dieta líquida: Se utilizó dieta comercial de 10 a 100 micras y epifeed (LHF1).
- Alimentación con artemia: Se inició la alimentación con artemia congelada desde Zoea 2, Zoea 3, mysis 1, mysis 2, mysis 3, postlarva 1, postlarva 2, postlarva 3, postlarva 4 y artemia viva desde PL5 en adelante.
- Dieta seca: Se utilizaron balanceados al que se adicionaron los respectivos probióticos según los tratamientos en estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Supervivencia de larvas de camarón

Los porcentajes de supervivencia presentan valores altamente significativos destacando, según la Prueba de Tukey, el tratamiento tres con 94.9% en comparación con el testigo que reporta los menores valores de 78.1%. Los tratamientos uno y dos son estadísticamente iguales (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de porcentajes de supervivencia en tratamientos.

Tratamientos	Promedios %
1	89.4 b*
2	92.4 ab
3	94.9 a
4 (Testigo)	78.1 c
Tukey	3.32
Promedio	88.7
C.V. %	1.14

*En las columnas, letras diferentes indican diferencia estadística; C.V.= Coeficiente de variación.

Longitud de larvas

La longitud de larvas de camarón en mm. (Cuadro 3), con valores altamente significativos, destaca al tratamiento 3 por presentar los mayores promedios de crecimiento en 4.8 mm

Las Figuras 1 y 2 muestran el desempeño de los tratamientos respecto al uso de probióticos en la cría de larvas de camarón en laboratorio. Se observa correspondencia entre el porcentaje de sobrevivencia y el tamaño en longitud (mm) al final de esta fase de producción, donde se corrobora que el mejor tratamiento es el 3 en comparación con los valores del tratamiento testigo que evidenció que cuando no se usan probióticos se reduce la supervivencia en 54% y el crecimiento en 68.7%, donde probablemente la contaminación del agua, al no estar los probióticos fue la causa de la afectación y reducción de los parámetros indicados.

Estudio económico de los tratamientos

De acuerdo al cálculo del presupuesto parcial se observa que el tratamiento testigo, sin aplicación de probióticos, y el tratamiento uno de menor dosis, presentan los menores costos

variables, mientras que los tratamientos tres y dos tienen los mayores costos, respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 3. Promedios de longitud de larvas de camarón.

Tratamientos	Promedios (mm)
1	4.0 ab*
2	4.3 ab
3	4.8 a
4 (Testigo)	3.3 b
Tukey	0.68
Promedio	2.19
C.V. %	9.22

*En las columnas, letras diferentes indican diferencia estadística; C.V.= Coeficiente de variación

Según el análisis de dominancia resultaron como tratamientos dominados los tratamientos dos, tres y uno con beneficios netos/tanque en USD de 1 484.20; 1 463.70 y 1 256.50 respectivamente (Cuadro 5).

Entre los tratamientos no dominados, se determinó que la mejor alternativa económica en correspondencia con los mejores niveles de supervivencia y crecimiento en longitud (mm) de larvas de camarón a la aplicación de probióticos, corresponde al tratamiento tres, ya que reporta la mayor Tasa de Retorno Marginal ubicada en 578%, seguida del tratamiento dos con aceptables niveles de sobrevivencia y crecimiento con 373% de TRM (Cuadros 5 y 6).

En concordancia a que los probióticos son aceptados como alternativa al uso de antibióticos por FAO y OMS, esta investigación determinó que cuando no se utilizan probióticos se reduce la supervivencia en crías de larvas de camarón hasta 54%, reduciendo así la productividad, según lo indican Díaz y Montes (2012).

Cuadro 4. Presupuesto parcial.

	Tratamientos			
	1	2	3	4 (T)
Rendimiento (Nº larvas)	1 904 801	2 150 395	2 135 787	1 155 795
Beneficio Bruto (USD/Tanque)	2000.00	2257.90	2242.50	1213.50
Dosis de Probióticos	55.34	85.24	110.68	---
Jornal de aplicación	17.26	17.26	17.26	17.26
Manejo del Experimento	670.90	670.90	670.90	651.31
Total de Costos Variables	743.50	773.80	779.30	668.57
Beneficio neto (USD/Tanque)	1256.50	1484.20	1463.70	544.93

Costo de larvas al inicio del experimento USD 0.00015; Costo larva al final, USD 0.00105; Costo Epicin Normal. USD 28.0/Kg; Costo Epicin 3W, USD 33.0/Kg; Costo Ecopro 4, USD 70.0/Kg.

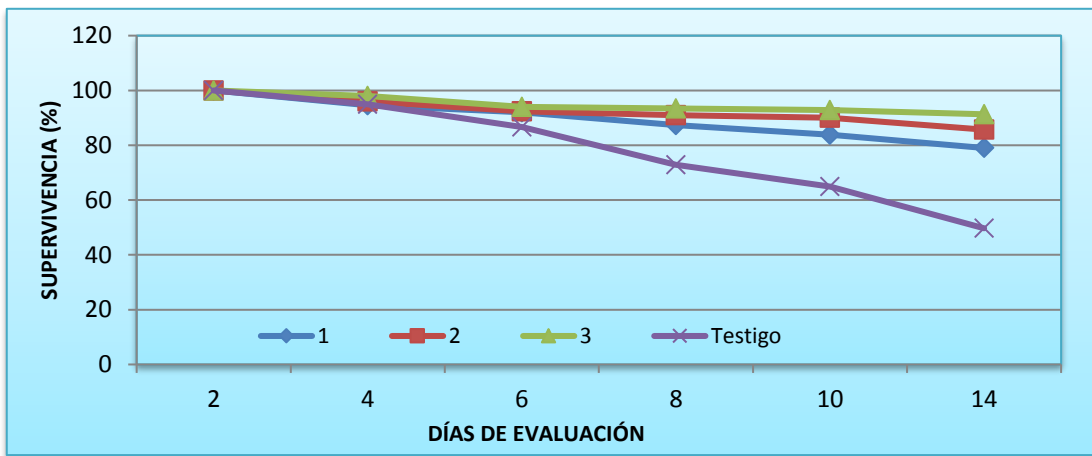


Figura 1. Porcentaje de supervivencia de larvas del camarón.
Fuente: autores

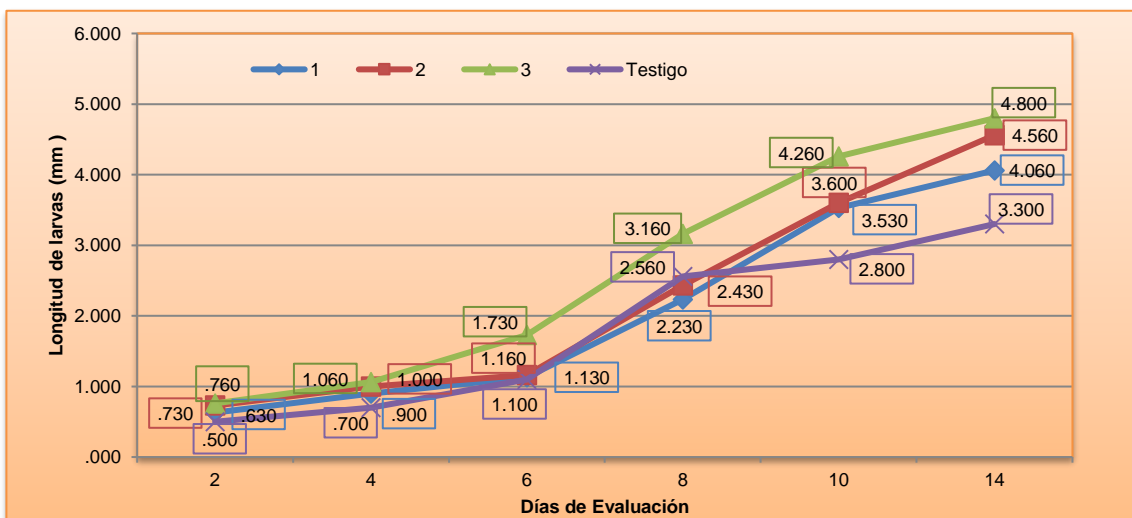


Figura 2. Crecimiento de larvas de camarón en mm.
Fuente: Autores

Cuadro 5. Análisis de dominancia.

Tratamientos	Costos variables (USD / tanque)	Beneficios netos (USD / tanque)
2	773.8	1 484.2 *
3	779.3	1 463.7 *
1	743.5	1 256.5 *
4 (T)	668.6	526.3

*Tratamientos no dominados; T= testigo.

Gatesoupe (2000) refiere que el interés por el uso de probióticos como tratamientos amigables con el medio ambiente se está incrementando rápidamente con la demanda de una producción sustentable, lo cual ha incidido para que su empleo empírico sea reemplazado por la racionalización científica.

En esta investigación se determinó que las mezclas de los probióticos Epicin 3W, + Epicin Normal, + Epicin Normal – Ecopro IV en dosis de 16, 18 y 24 + 6 gramos/tm, y aplicados secuencialmente durante los estadios Nauplios 5 – Z1, m2 – m3 y P1 – p10, fue el tratamiento más destacado con 94.8% de supervivencia y crecimiento de larvas con una longitud de 4.8 mm. Estos resultados se asemejan a los reportados por Alfonso *et al.* (1998) que obtuvieron tallas finales entre 4.14 y 4.36 mm, y por González (2014) que reporta datos de biomasa final superiores en los tratamientos con probióticos en comparación con ácidos orgánicos como otra fuente de alimentación.

No obstante, que el efecto de supervivencia y longitud de las larvas de camarones deben ser comparados con el costo de las dosis de probióticos, en este experimento se reportan dos Tasas de Retorno Marginal, una alta para el tratamiento con dosis mayores de probióticos en 578% que puede ser adoptada por productores de recursos económicos ilimitados, seguido en eficacia por el segundo mejor tratamiento de menor dosis de probióticos con TRM de 373% para productores de recursos limitados. En este contexto, los resultados son alentadores, tal cual lo establece el Instituto Politécnico Nacional (2013) con el desarrollo de una tecnología para producir millones de larvas de camarón libres de patógenos específicos y eliminar la necesidad de hacer recambios de agua durante el cultivo. Adicionalmente los probióticos no provocan daños al ecosistema ni a la producción del crustáceo, tampoco producen efectos negativos en la salud del ser humano, como sí lo hacen los antibióticos y hormonas que se emplean con el mismo fin.

CONCLUSIONES

Se determinó que cuando no se utilizan probióticos se reduce la sobrevivencia de larvas de camarón en 54% y el crecimiento en 2.0 mm de longitud, lo cual se evidenció en el tratamiento testigo sin aplicación.

Cuadro 6. Tasa de Retorno Marginal.

Tratamientos	C.V. (USD/tanque)	B.N. (USD/tanque)	IMCV (USD/tanque)	IMBN (USD/tanque)	TRM (%)
2	773.8	1 484.2	5.5	20.5	373
3	779.3	1 463.7	35.8	207.2	578
1	743.5	1 256.5			

C.V.= Costos variables; B.N.= Beneficio Neto; I.M.C.V.= Incremento Marginal de Costos Variables; I.M.B.N.= Incremento Marginal de Beneficio Neto; T.R.M.= Tasa de Retorno Marginal.

El mejor tratamiento correspondió cuando se utilizaron mezclas de los probióticos: Epicin 3W, + Epicin Normal, + Epicin Normal – Ecopro IV en dosis de 16, 18 y 24 + 6 g/Tm, aplicados secuencialmente durante los estadios: Nauplio 5 – Z1, m2 – m3 y P1 – p10; con el cual se obtuvieron 94.8% de sobrevivencia y crecimiento de larvas en longitud de 4.8 mm, seguido del tratamiento en dosis menores (12, 13 y 16+5 g/Tm), mismo que representa una alternativa con sobrevivencias de 92.4% y crecimientos de larvas en longitud de 4.3 mm.

El análisis económico determina dos alternativas para uso de probióticos: La primera con Tasa de Retorno Marginal de 578% que puede ser adoptada por productores con mayor capital económico insertos en mercados exigentes y, el segundo mejor tratamiento con Tasa de Retorno Marginal de 373% para productores de capitales limitados.

RECOMENDACIÓN

Para crías a nivel de laboratorio de estado postlarval de camarón, se recomienda, utilizar mezclas de los probióticos: Epicin 3W, + Epicin Normal, + Epicin Normal, + Epicin Normal – Ecopro IV en dosis de 16, 18 y 24 + 6 g/Tm, y aplicados secuencialmente durante los estadios larvarios de: Nauplio 5 – Z1, m2 – m3 y P1 – p10.

LITERATURA CITADA

Aguayo, D.; Cedeño, R.; Donoso, E. y Rodríguez, J. 2009. *Uso de Probióticos y B. 1,3/1,6 – glucanos en la alimentación del camarón, Litopenaeus vannamei como estrategia para incrementar la producción.* Disponible en: www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/1724.pdf

Alfonso, E.; Beltrone, E.; Andreatta, E.; Lemos, A. Quaresma, J. 1998. *Uso de bacterias beneficiosas en larvicultura del camarón. Penaeus sehimittii* (en línea). Consultado el 22 de febrero de 2012. Disponible en: <http://www.alken.murray.com/>.

Bayot, B. 1998. *Práctica de producción camaronera.* El mundo acuícola. Fundación CENAIM – ESPOL 4(1): 21 - 24.

CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento para Maíz y Trigo). 1988. *Metodológico para el análisis económico.* México. 140 pp.

Díaz Palacios, M. y Montes Rafailano, M. 2012. *Efecto de probiótico en la sobrevivencia y crecimiento larval del camarón blanco (Litopenaeus Vannamei) en la estación de maricultura Los Cábanos, Senonate, San Salvador.* Tesis, Facultad Ciencias Agronómicas (en línea). Consultado 3 de Julio de 2015. Disponible en: ri.ues.edu.sv/3131/1/13101348.pdf

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2009. *Probióticos como herramientas biotecnológicas en el cultivo de camarón* (en línea). Consultado el 13 de Octubre del 2012. Disponible en: agris.fao.org.openagris/search.do?

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). s.f. Programa de información de especies acuáticas, *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). Consultado 14 de octubre 2015. Disponible en (En línea) www.fao.org/fishery/contrasector/nasoecuador/es

Gatesoupe, F. J. 2000. *Uso de probióticos en acuicultura* (en línea). Disponible en www.uanl.mx/utillerias/nutricion_acuicola/IV/archivos/27gates.pdf

González, M. 2014. *Efecto de la adición de ácidos húmicos y probióticos sobre el crecimiento del camarón (Litopenaeus vannamei).*

Instituto Politécnico Nacional. 2013. *Mejorar la producción de camarón con probióticos* (en línea). Consultado 17 de junio 2015. Disponible en: bitacora.ingenet.com.mx.>destacados

PRONACA. 2011. *El cultivo del camarón en Ecuador.* Diario, El Universo, Sección Agropecuario.