

Efecto de dos probióticos en el crecimiento (talla y peso) de la especie *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage 1878).

Retana-Ortega DA*, Velasco-Sarabia J, Castro-Mejía J y Castro-Mejía Germán

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Laboratorio de Producción de Alimento Vivo. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, C. P. 04960 Del. Coyoacán. Tel. (55) 4065-6136

Email: retana_biologo@hotmail.com

RESUMEN

En la presente investigación se utilizaron 60 peces juveniles de (*Pangasius hypophthalmus*) provenientes del mercado de Mixiuhca, estos organismos fueron alimentados con una dieta pero con diferente probiótico. La investigación se realizó durante 24 semanas en dos tinas de acrílico (30 org tina⁻¹) de 1 m² x 0.40 m de profundidad, con 200 L de agua. La temperatura se mantuvo en 25± 2°C. Cada semana los organismos fueron pesados con una balanza digital Ohaus 0-400 ± 0.01 g y se midió su longitud total con un Vernier, con la finalidad de que al término se determinara la Tasa de crecimiento absoluto (TCA). El promedio del peso de los juveniles de *P. hypophthalmus* al inicio de la investigación fue de 1.215 ± 0.219 g con una talla de 5.129 cm. A las 24 semanas de la investigación los organismos alimentados con la dieta enriquecida con el probiótico *Bacillus laterosporus* extraído de la langosta roja, alcanzaron un peso de 90.279 ± 26.705 g mientras con el probiótico *Bacillus* sp. (La₃) extraído del pez ángel fue de 24.163 ± 6.833 g en ambos probióticos la talla alcanzó 20.225 ± 4.558 cm. Los valores de la Tasa de crecimiento Absoluto (TCA) revela que el mayor crecimiento se da con el probiótico *Bacillus laterosporus* en las primeras 12 semanas, mientras que para el probiótico *Bacillus* sp. (La₃) pez ángel se percibe a las 24 semanas. Esto se corrobora con el Factor de bienestar (KM). El objetivo de este trabajo fue conocer cuál de los dos probióticos *Bacillus* sp (La₃) pez ángel o *B. laterosporus* favorece el crecimiento de los organismos tanto en talla como en peso, así como su estado de bienestar y sobrevivencia.

Palabras clave: *Pangasius hypophthalmus*, dieta, probiótico, TCA, KM.

INTRODUCCIÓN

El *Pangasius hypophthalmus*, comúnmente conocido como pez gato es una especie bentopelágica, por lo general viven dentro de los intervalos de pH 6.5-7.5 a una temperatura de 22-26°C, sus hábitos alimenticios lo consideran

omnívoro ya que se alimenta de algas, zooplancton, crustáceos y algunos peces (FAO 2013). Este organismo ha alcanzado un impresionante éxito como una especie acuícola comercial. Sus niveles de producción y distribución en los mercados internacionales son ahora similares a la de otras especies establecidas como líderes en la acuicultura, como por ejemplo tilapia, camarón y salmón (McGee 2010).

Actualmente en México se puede encontrar como especie decorativa y existe un gran interés en su producción acuícola ya que es el quinto importador de *Pangasius* en el mundo, (McGee 2010).

El uso de probióticos en la dieta de los de los peces ha demostrado un aceleramiento en su crecimiento tanto en talla como en peso, al mismo tiempo el uso de probióticos en la acuicultura ha demostrado sus beneficios en el control de bacterias patógenas, fuente de nutrientes y mejoramiento de la digestión por efecto de enzimas esenciales, eliminación de materia orgánica disuelta, a la vez incrementa la respuesta inmune contra organismo patógenos (Irianto y Austin 2002; Burr et al. 2005; Balcazar et al. 2006), reduciendo el riesgo de enfermedades la necesidad de medicamentos y de este modo el riesgo de residuos dejados en el ambiente es reducida (BioMar 1994). El grupo de probióticos usados en la acuicultura está conformado por bacterias anaerobias facultativas Gram-negativas generalmente se encuentran en el tracto digestivo de peces y mariscos; la anaerobias obligadas o facultativas Gram-positivas dominan el tracto de los humanos y animales terrestres (Gatesoupe 1999). Los probióticos comúnmente usados en acuicultura incluyen una amplia variedad

de taxas, desde la bacteria láctica (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*), a Bacillales (*Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*), género (*Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Roseobacter*, *Aeromonas*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Vibrio*) y levaduras (*Debaryomyces*, *Saccharomyces*) (Nikoskelainen et al. 2001).

El objetivo de este trabajo fue conocer cuál de los dos probióticos *Bacillus* sp. (La₃) extraído del pez ángel o *B. laterosporus* extraído de la langosta roja favorece el crecimiento de los organismos tanto en talla como en peso, así como su estado de bienestar y sobrevivencia.

MATERIAL Y METODOS

Se obtuvieron 60 peces juveniles de (*Pangasius hypophthalmus*) provenientes del mercado de Mixiuhca, los cuales se colocaron en dos tinas de acrílico de 1.0 m de diámetro y 0.40 m de profundidad, llenadas con 200 L de agua (30 org tina⁻¹). La temperatura se mantuvo en 25± 2 °C, para el resguardo de los organismos se colocó una malla sombra sobre las tinas así como para el filtro.

Para la alimentación de los peces, se preparó una dieta a la cual se le agregó dos probióticos diferentes. Los ingredientes utilizados

Tabla 1.- Ingredientes para la elaboración de 500 g de dieta.

Ingrediente	Cantidad
Zanahoria*	2
Brócoli*	1
Espinacas*	1 (manejo)
Filete de pescado (Tilapia)	300 g
Manzana roja	1
Kiwi	2
Plátano	2
Complejo vitamínico	2000 µg
Vitamina C	0.5 g
Complejo B	200 µg
Agar bacteriológico	20 g disuelto en 800 mL de agua

*Previamente cocida

para la elaboración de la dieta se encuentran en la (Tabla 1).

Tanto la zanahoria, espinaca, brócoli y tilapia fueron previamente hervidos, con la finalidad de que se pusieran suaves (un tenedor penetra sin dificultad). Posteriormente se disolvieron 20 g de agar bacteriológico en 800 mL de agua fría, para hervirlo posteriormente hasta que la mezcla se pusiera incolora. Una vez preparado el agar bacteriológico, en una licuadora se añadieron 100 mL de agua y se fue incorporando poco a poco los ingredientes húmedos, dando paso después a los ingredientes secos (vitaminas), para posteriormente incorporar el agar bacteriológico (800 mL previamente preparados).

Todos los ingredientes mezclados se dividieron en dos partes iguales (1000 mL cada uno), a los cuales se les agregó 1.5 µL de *Bacillus* sp. (La₃) extraído del tracto digestivo del pez ángel y al otro 1.5 µL de *Bacillus laterosporus* extraído del tracto digestivo de la langosta roja. La mezcla fue colocada en hieleras de plástico, previamente desinfectadas con alcohol al 96%, para obtener 12 cubos de alimento por hielera de 28 ± 1 g de peso.

Cada cuatro semanas (24 semanas total experimento) fue tomada la longitud total (Lt en centímetros) de los organismos con la ayuda de un Vernier digital, así como el peso (g) de los mismos con la ayuda de una balanza digital Ohaus con un intervalo de 0-400g con una precisión de 0.01g. Todos los días de la semana fueron limpiadas las tinas (resto del alimento) para mantener las mejores condiciones.

Con las mediciones tanto de peso como de longitud total se obtuvieron pesos y tallas promedios, así como la tasa de crecimiento absoluto (TCA), y el factor de condición (KM) de la población, en cada una de las 24 semanas de la investigación. Las fórmulas que se utilizaron fueron:

Tasa de crecimiento absoluto (TCA)

$$TCA = \frac{(\text{Peso o Longitud 2}) - (\text{Peso o Longitud 1})}{(\text{Tiempo 2} - \text{Tiempo 1})}$$

Factor de condición (KM)

$$KM = \frac{\text{Peso}}{\text{Longitud}^3} \times 10^5$$

Análisis estadístico

Con el programa Microsoft Excel 2010, se creó la base de datos con las variables de longitud total y peso. Se realizó una prueba de análisis descriptivo para determinar los valores promedio y el error estándar de las variables biométricas.

Para determinar diferencias significativas se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una sola vía ($P < 0.05$), y se aplicó la prueba de comparación de medidas múltiples por el método de Tukey ($P < 0.05$). Para este análisis estadístico se empleó el programa SYSTAT 12.0

RESULTADOS

Al inicio de la investigación los organismos tenían una talla promedio de 5.129 ± 0.083 cm, al término alcanzaron una talla de 20.225 ± 4.558 cm con ambos probióticos, a su vez el aumento en peso con los diferentes probióticos (Tabla 2, Fig. 1 y 2).

Con respecto a la Tasa de Crecimiento Absoluto (TCA) en la Figura 2, se muestra que para los organismos alimentados con *B. laterosporus* obtuvieron un valor de 1.416 g día^{-1} , mientras que para la dieta con *Bacillus* sp. El incremento diario fue de tan solo 0.349 g . Se observa que es hasta la octava semana que la diferencia comienza a ser significativa en el incremento de las dos dietas. ($P < 0.05$).

Los organismos alimentados con el probiótico *Bacillus laterosporus* langosta presentaron una ganancia en peso de 89.064 g , a comparación con los de *Bacillus* sp. (La₃) pez ángel de 22.948 g a lo largo de la investigación.

El Factor de condición o grado de bienestar (KM), se presenta en la Figura 3. La dieta enriquecida con *B. laterosporus* presenta un KM por arriba del KM inicial durante las 24 semanas de cultivo, aunque es a partir de la semana 16 que se

observa un decremento, ya que los organismos empiezan a perder la asimetría en cuanto al peso y la longitud. En cuanto a la dieta enriquecida con *Bacillus* sp. (La₃), termina por debajo del KM inicial a las 24 semanas de cultivo. Estos organismos son largos pero flacos.

Tabla 2. Valores promedio de talla (cm), peso (g) y D.S (Desviación estándar) de *P. hypophthalmus* con los diferentes probióticos durante las 24 semanas.

Semana	Talla (cm)	Peso (g)	
		<i>Bacillus laterosporus</i>	<i>Bacillus</i> sp. (La ₃)
0	5.129	1.215 ^a	1.215 ^a
D.S.	± 0.083	± 0.219	± 0.174
4	5.341	1.739 ^a	1.643 ^a
D.S.	± 0.186	± 0.384	± 0.159
8	5.809	2.666 ^a	2.038 ^a
D.S.	± 0.486	± 2.128	± 0.609
12	7.032	7.990 ^a	3.566 ^b
D.S.	± 0.982	± 5.445	± 1.421
16	9.510	21.704 ^a	7.149 ^b
D.S.	± 1.675	± 10.341	± 2.598
20	13.741	47.803 ^a	13.707 ^b
D.S.	± 2.566	± 16.815	± 4.139
24	20.225	90.279 ^a	24.163 ^b
D.S.	± 4.558	± 26.705	± 6.833

Letras iguales en filas en el peso, señalan no diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los probióticos.

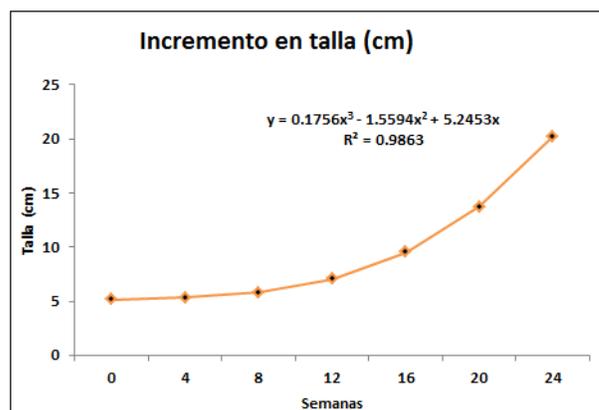


Fig.1. Incremento en talla durante las 24 semanas de cultivo de *Pangasius hypophthalmus*.



Fig. 2. Incremento en peso durante las 24 semanas de cultivo de *Pangasius hypophthalmus* enriquecidos con *Bacillus laterosporus* y *Bacillus sp.* (La₃).

En cuanto a la sobrevivencia de los organismos alimentados con los diferentes probióticos se observa que el 47% corresponde al probiótico *Bacillus laterosporus* (langosta roja). Sin embargo, el probiótico *Bacillus sp.* (La₃) pez ángel solo obtuvo el 13% de sobrevivencia.

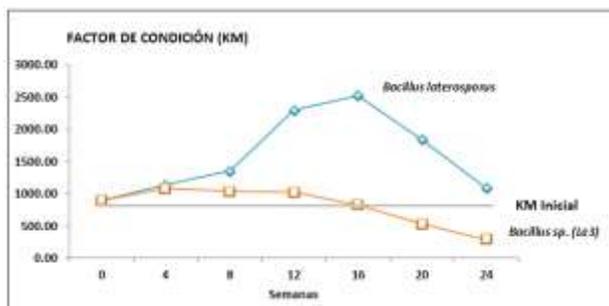


Fig.3. Factor de condición o grado de bienestar de la población de *Pangasius hypophthalmus* durante las 24 semanas de cultivo.

DISCUSIÓN

La elaboración de la dieta se escogió de acuerdo a los hábitos alimenticios de *P. hypophthalmus*, ya que es considerado como omnívoro. Se sabe que los *P. hypophthalmus* se alimentan de algas, plantas superiores, zooplancton y los insectos, mientras que los especímenes más

grandes también se alimentan de frutas, crustáceos y peces (FAO 2013).

Debido a esto, la elaboración y calidad de esta dieta fue la adecuada para observar el crecimiento, pero lo más importante es comprobar que el añadirle diferentes tipos de probióticos acelera la Tasa de crecimiento.

Se observó que los probióticos utilizados *Bacillus sp.* (La₃) y *B. laterosporus*, dieron resultados diversos en las variables biométricas consideradas, así como la Ganancia en peso, TCA, y KM.

Al inicio de la investigación los organismos tenían una talla de 5.129 ± 0.083 cm, al término alcanzaron una talla de 20.225 ± 4.558 cm con ambos probióticos, tomando en cuenta que se encontraban en tinas con dimensiones pequeñas y esto restringe su crecimiento tanto en talla como en peso, ya que se ha observado que estos organismos en vida libre alcanza una talla máxima de 130 cm con un peso de 44 kg (FAO 2013).

Estas variaciones podrían deberse a que esto *Bacillus* usados como probióticos se adhieren de forma adecuada en el tracto digestivo de los peces (Vine et al. 2004).

(Gildberg et al. 1995) menciona que las bacterias utilizadas como probióticos en realidad sufren una exclusión competitiva en el tracto digestivo del hospedero, ya sea por alimento o por espacio, por lo que la inclusión de bacterias benéficas en las dietas para animales acuáticos pueden tener efectos muy variados (Himabindu et al. 2004). La aplicación e incorporación de los probióticos es sugerido como una medida de prevención de las enfermedades de organismos acuáticos (Lara-Flores y Aguirre-Guzmán 2009) y puede aumentar la tasa de crecimiento, sea en talla o peso, un mayor incremento de la respuesta inmune ayuda a mejorar la sobrevivencia al presentarse una enfermedad (Aboagye 2008) (Mesalhy et al. 2008).

En esta investigación los mejores resultados se obtuvieron, con los peces alimentados con el probiótico *Bacillus laterosporus* langosta ya adquirieron una mayor ganancia en peso y longitud total, en comparación a los peces alimentados con el probiótico *Bacillus sp.* (La₃) pez ángel ya que

generó los valores más bajos desde el inicio de la investigación.

El factor de condición (KM) y la tasa de crecimiento absoluto de los peces alimentados con la dieta enriquecida con el probiótico *Bacillus laterosporus* fue superior, contrario a lo que sucedió con el probiótico *Bacillus* sp. (La3) ya que su KM se mantuvo por debajo del óptimo, como ocurrió con en la tilapia y langostino sometidas a dietas con *B. subtilis* (Günther y Jiménez-Montealegre 2004).

De acuerdo a lo anterior la inclusión de bacterias benéficas en las dietas para animales acuáticos puede tener efectos muy variados con la última consecuencia de un mejoramiento de la salud y/o del crecimiento de los animales aunque este último puede ser en parte una consecuencia del primero (Verschuere et al. 2000; Geiger 2001).

En lo que se refiere a la temperatura, esta se mantuvo de acuerdo a lo mencionado por (FAO, 2013) que oscila de los 22 a 26 °C. Las variaciones en la temperatura pueden causar stress en estos organismos y provocar una disminución en su crecimiento, debido a que estos organismos son poiquilotermos. Es por ello que la temperatura no debe de tener fluctuaciones ya puede tener efectos negativos sobre los peces, hace que sea más lento el desarrollo de los huevos, reduce el crecimiento de los juveniles y de los peces de más edad, disminuye la absorción de alimento e incluso la detiene completamente y aumenta la vulnerabilidad a infecciones y enfermedades (Colección 2013).

En cuanto sobrevivencia, el mayor número se observa con la dieta enriquecida con el probiótico *Bacillus laterosporus* con el 47 %. Esta mortalidad puede deberse al stress de los organismo, con el manejo de la medición de la talla y el peso realizado cada semana. Cabe destacar que con el probiótico *Bacillus* sp. (La3) solo es del 13 % ya que los requerimientos nutricionales fueron deficientes.

CONCLUSIONES

La dieta enriquecida con el probiótico *B. laterosporus* presentó una tasa de crecimiento absoluto mayor a la del probiótico *Bacillus* sp. (La3).

El uso de diferentes probióticos acelera el crecimiento, ayuda a prevenir enfermedades y aumenta la sobrevivencia de los organismos acuáticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aboagye D. 2008. Evaluation of the commercially-available probiotic lymnozyme® as an effective control of bacterial infections in channel catfish. Tesis de maestría. Auburn University.
- Aguirre-Guzmán G, Ricque D, Cruz-Suárez IE. 2002. Survival of *Saccharomyces cerevisiae* in pelleted and extruded shrimp feeds. *Aquaculture* 208: 125-135.
- Ahilan B, G. Shine y R. Santhanam. 2004. Influence of probiotics on the growth and gut microflora load of juvenile Gold fish (*Carassius auratus*). *Asian Fisheries Science* 17: 271-278.
- Balcazar JL, I. de Blas, I. Ruíz-Zarzuela, D. Cunningham, D. Vendrell y JL. Múzquiz. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology* 114: 173-186.
- BioMar 1994. Biomar lanzará el primer alimento con probióticos autorizado para su uso en la acuicultura. Chile.
- Burr G, D Gatlin y S Ricke. 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 36(4): 425-436.
- Colección FAO Capacitación. 2013. http://ftp.fao.org/fi/CDrom/FAO_Training/FAO_Training/General/x6709s/x6709s02.htm
- FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2013. Pesca y Departamento de Acuicultura. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Pangasius_hypophthalmus/en
- Gatesoupe FJ. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180:147-165.
- Geiger F. 2001. Untersuchungen ueber die wirkung oral verabreichter β -glukane und probiotika bei zierfischen gegenueber infektionen durch fakultativ pathogene bakterien. Tesis de Doctorado, Escuela Veterinaria Hannover. 115 p.
- Gildberg A, A. Johansen y J. Bogwald. 1995. Growth and survival of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry given diets supplemented whit fish protein hydrolysate and lactic acid bacteria during a challenge trial with *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture* 138: 23-24.

- Günther J y R. Jiménez-Montealegre. 2004. Efecto del probiótico *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y langostino (*Macrobrachium rosenbergii*) en laboratorio. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. AP.86-3000.
- Irinato A. y B. Austin. 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of fish Diseases* 25: 633-642.
- Lara-Flores, M., Aguirre-Guzmán, G. 2009. The use of probiotic in fish and shrimp aquaculture, A review: Chapter 4. In: N. Pérez-Guerra, L. Pastrana-Castro (eds.), *Probiotics: Production, Evaluation and Uses in Animal Feed*. Research Signpost, Kerala, India.
- McGee M. 2010. *Pangasius* for Western Aquaculture. *Global Aquaculture The Advocate. The Global Magazine for Farmed Seafood*. Vol. 13 No 6. Puerto Rico.
- Mesalhy SA, MM Fathi y G John. 2008. Effect of probiotic on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research* 39: 647-656.
- Nikoskelainen S, S Salminen, G Bylund, AC Ouwehand. 2001. Characterization of the properties of human- and dairy-derived probiotics for the prevention of infectious diseases in fish. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (6): 2430–2435.
- Verschuere L, G Rombaut, P Sorgeloos y W Verstraete. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Molecular Microbiology* 64:651-671.
- Vine NG, WD Leukes, H Kaiser. 2004. In vitro growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus. *FEMS Microbiol. Lett.* 231: 145–152.