

Eficacia del Bronopol en la reducción de la carga bacteriana de Metanauplios de *Artemia* enriquecidos.

L. Rivera¹, D. Costas¹, A. G. Villanueva¹, A. Casal¹ y N. Costoya¹

¹ Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT), Universidade de Vigo, Isla de Toralla s/n, 36331 Vigo, leticia.rivera@uvigo.es

Abstract

A study was carried out to determine the efficacy of Bronopol to reduce bacterial load on enriched *Artemia* metanauplii. *Artemia* Metanauplii were produced according to industrial standard operating procedures. Bacterial loads on *Artemia* samples were determined by plating on Marine Agar (MA) and Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar (TCBS) and ranged from 1.51×10^3 to 5.82×10^3 and 1.83×10^2 to 4.60×10^2 colony forming units (CFU) per ml on MA and TCBS agar plates, respectively. The use of Bronopol significantly ($p < 0,001$) reduces bacterial load on *Artemia* Metanauplii when compared to untreated cultures.

Justificación

Los nauplios y metanauplios de *Artemia* son utilizados habitualmente como alimento vivo en el cultivo larvario de especies de peces y crustáceos. Según Sorgeloos, Dhert y Candreva (2001), la microbiota asociada con los cultivos de *Artemia* está compuesta por numerosas especies de vibrionáceas, las cuales pueden suponer una importante amenaza para la salud de las larvas que van a ser alimentadas. Diversos autores (Pérez Benavente & Gatesoupe, 1988; Grisez *et al.*, 1996) han apuntado que el alimento vivo, y especialmente la *Artemia*, es el principal vector de numerosas infecciones en el cultivo larvario de peces. Es habitual que las granjas productoras sufran pérdidas importantes, especialmente durante la fase larvaria, con aumento de mortalidades o producciones inestables a causa de la incidencia de la carga bacteriana introducida en el cultivo larvario por un inadecuado tratamiento del alimento vivo. Diferentes metodologías han sido testadas para reducir la incidencia de este problema, desde el uso de antibióticos (Sahul, A.S. & Balasubramanian, G. 2000), probióticos (Villamil *et al.*, 2003) o desinfectantes químicos (Gatesoupe, 2002; Sahul, A.S. & Balasubramanian, G. 2000).

El Bronopol es un compuesto químico con una alta actividad antimicrobiana ampliamente utilizado en la industria farmacéutica y cosmética. En acuicultura se aplica principalmente para el control de las infecciones fúngicas en huevos de salmónidos.

En el presente trabajo, realizado en la Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT), se evaluó la eficacia antimicrobiana del Bronopol para controlar la microbiota asociada a los cultivos de *Artemia*.

Material y Métodos

La producción de *Artemia* (Salt Lake Aquafeed - Premium *Artemia* Feeds, Catvis BV, Netherlands) se llevó a cabo siguiendo protocolos industriales ampliamente implantados. Los cistes de *Artemia* fueron descapsulados y a continuación incubados a una Salinidad 36‰, Temperatura 28-29 °C, a una densidad (3 g cistes/l. de agua) y cosechados a las 24 h. Tras la cosecha, se procedió al lavado de la *Artemia* para a continuación pasar a la fase de enriquecimiento, que se llevó a cabo a una salinidad de 36‰, temperatura de 26 °C, a una densidad de 0,5 millones de nauplios /l. de agua, utilizando 0,4 g/l. de Ori-Gold (Skretting España SA, Burgos) como dieta de enriquecimiento. La cosecha se realizó tras 12-14 h. Una vez cosechada, se procedió al lavado de la *Artemia* con agua de mar filtrada a 1 µm. absoluta y esterilizada mediante radiación ultravioleta durante 15 minutos. Las muestras para la determinación de la carga bacteriana se recogieron de contenedores de almacenamiento en frío después de la cosecha, donde la concentración de metanauplios fue de 3 millones / litro.

Para evaluar la eficacia del producto ensayado, se llevaron a cabo 6 réplicas, 3 grupos control y 3 grupos experimentales, en los cuales se añadió el producto comercial según las indicaciones dadas por el fabricante.

Se tomaron muestras de 10ml. de Metanauplios de *Artemia* cosechadas de los grupos control y experimentales, que fueron homogeneizadas empleando potter de vidrio. Se realizaron diluciones seriadas del homogenado con agua de mar estéril, que se sembraron en placas de Agar Marino (AM) y Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS) para el recuento de unidades formadoras de colonia (UFC).

Los datos obtenidos fueron comparados utilizando *t*-test de Student. Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar. Se consideró que las diferencias fueron significativas para $p < 0.05$.

Resultados y Discusión

Los resultados de los recuentos de UFC/ml. fueron de $2.13 \times 10^6 - 5.29 \times 10^6$ (AM) y $1.2 \times 10^5 - 1.57 \times 10^6$ (TCBS) para los grupos control y de $1.51 \times 10^3 - 5.82 \times 10^3$ (AM) y $1.83 \times 10^2 - 4.60 \times 10^2$ (TCBS) para los grupos tratados con Bronopol.

Tabla 1. Media y desviación estándar del Log UFC/ml

Control		Bronopol	
AM	TCBS	AM	TCBS
6,46 \pm 0,17	5,64 \pm 0,46	3,41 \pm 0,22	2,30 \pm 0,43

En la tabla 1 se muestra la media y desviación estándar del Log UFC/ml para los grupos control y tratados con Bronopol. Dichos resultados se muestran gráficamente en la figura 1

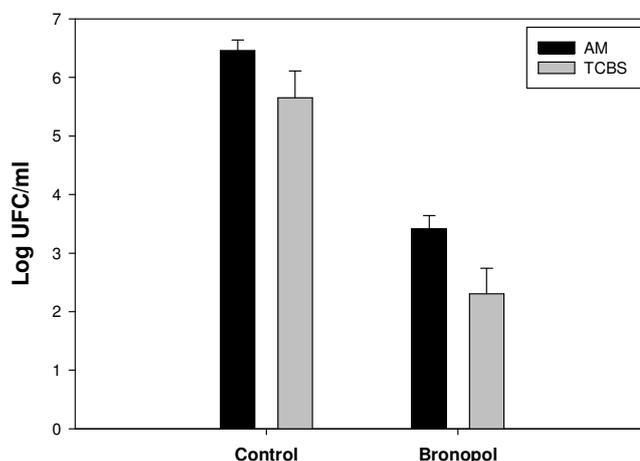


Figura 1. Log UFC/ml para el grupo control y el tratado con Bronopol.

Se han obtenido mejores resultados que empleando antibióticos (Sahul, A.S. & Balasubramanian, G. 2000), probióticos (Villamil *et al.*, 2003) o desinfectantes químicos (Gatesoupe, 2002; Sahul, A.S. & Balasubramanian, G. 2000).

Se confirma por tanto la eficacia antimicrobiana del Bronopol, que reduce significativamente ($p < 0.001$) tanto las bacterias marinas heterotróficas (AM), como las vibrionáceas (TCBS).

Bibliografía

- Gatesoupe, F. 2002. Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia* nauplii as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*. *Aquaculture*, 212: 347-360.
- Grisez, L., Chair, M., Sorgeloos, P., Ollevier, F. 1996. Mode of infection and spread of *Vibrio anguillarum* in Turbot *Scophthalmus maximus* larvae after oral challenge through live feed. *Diseases of Aquatic Organisms*, 26 : 181-187.
- Pérez Benavente, G., Gatesoupe, F. 1988. Bacteria Associated with Cultured Rotifers and Artemia are Detrimental to Larval Turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquacultural Engineering*, 7 : 289-293.
- Sahul, A.S., Balasubramanian, G. 2000. Antibiotic resistance in bacteria isolated from *Artemia* nauplii and efficacy of formaldehyde to control bacterial load. *Aquaculture*, 183: 195-205.
- Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P. 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200 : 147-159.
- Villamil, L., Figueras, M., Planas, M., Novoa, B. 2003. Control of *Vibrio alginolyticus* in *Artemia* culture by treatment with bacterial probiotics. *Aquaculture*, 219: 43-56.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la dirección y al personal de la ECIMAT la ayuda humana y técnica facilitada durante la realización de los experimentos.