



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO

---

---

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADO(A) EN BIOLOGÍA

**Respuesta inmunológica de *Oreochromis niloticus*  
mediante la aplicación de probióticos en su dieta**

QUE PRESENTA EL ALUMNO (A)

**Leonor Rojas Huerta**

Matrícula 2152027428

ASESORES:

Dra. María del Carmen Monroy Dosta-UAM X- (28906) Interno

M. en C.A. Daniel Becerril Cortés — (39413) Externo

Ciudad de México.

Enero 2020

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de los probióticos *Rhodococcus sp* y el probiótico comercial INVE adicionados a la alimentación *Oreochromis niloticus* con el fin de evaluar cambios en la sobrevivencia, crecimiento y poblaciones celulares inmunológicas en sangre periférica. Se separaron tres tratamientos aleatoriamente, un grupo control (alimentado con hojuelas adicionando el 5% de su peso total), grupo INVE (.002 g.) y grupo *Rhodococcus* (una concentración de  $1 \times 10^8$ , cada tratamiento con cinco organismos y tres réplicas. El experimento tuvo una duración de 60 días, donde se fue registrando la sobrevivencia diariamente, se obtuvieron datos biométricos cada 15 días y al finalizar se seleccionaron a dos individuos por acuario, se tomó una muestra sanguínea de la aleta caudal, se realizó frotis en un portaobjetos, se realizó tinción de Giemsa. Finalmente, las muestras teñidas fueron evaluadas y analizadas estadísticamente. Los resultados mostraron que la sobrevivencia de los tres tratamientos fue del 100%, el grupo control mostró mayor crecimiento en peso y longitud en comparación con los grupos INVE y *Rhodococcus*. En las muestras teñidas solo se pudieron identificar eritrocitos en los tres grupos. No se mostraron efectos positivos de los probióticos sin embargo el grupo *Rhodococcus* fue el que tuvo mayor valor de eritrocitos por campo óptico.

**PALABRAS CLAVE:** Probiótico, Sistema Inmune, *Rhodococcus sp.*, *Oreochromis niloticus*

# ÍNDICE

<b>1 INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2 ANTECEDENTES</b>	2
2.1 Generalidades de la <i>O. niloticus</i>	2
2.2 Generalidades de <i>Rhodococcus</i>	2
2.3 Sistema inmunológico	2
2.4 Uso de probióticos para promover la respuesta inmunológica	4
<b>3 OBJETIVOS</b>	6
<b>4 METODOLOGÍA</b>	6
4.1 Peces	6
4.2 Supervivencia y crecimiento	7
4.3 Análisis inmunológico	7
4.4 Análisis estadísticos	7
<b>5 RESULTADOS</b>	7
5.1 Supervivencia	7
5.2 Crecimiento	7
5.3 Diferencial leucocitario	9
<b>5 DISCUSIÓN</b>	10
<b>6 CONCLUSIONES</b>	11
<b>7 REFERENCIAS</b>	12

## TABLA DE ILUSTRACIONES

<b>Figura 1.</b> Comparación de peso en los cinco diferentes tiempos de los tres tratamientos	7
<b>Figura 2.</b> Comparación de longitud de los tres tratamientos en los cinco diferentes tiempos	8
<b>Figura 3.</b> Número de eritrocitos por campo de cada uno de los tratamientos.	9
<b>Figura 4.</b> Imágenes de las tinciones, de los campos de los tres diferentes grupos de tratamiento (A: Control; B: INVE y C: <i>Rhodococcus</i> ).	9

## 1 INTRODUCCIÓN

La acuicultura en México es una actividad con alto desarrollo en los últimos años, la cual ha brindado grandes aportaciones económicas al país y ha contribuido con el enriquecimiento en la diversidad de organismos (Norzagaray *et al.*, 2012). Entre los muchos organismos utilizados en la acuicultura, una de las especies de mayor interés comercial es la tilapia (*Oreochromis niloticus*), debido a que es una especie que se adapta fácilmente a las condiciones ambientales, presenta gran resistencia física, tolera amplios intervalos de salinidad, tiene un crecimiento rápido, alta capacidad reproductora y adaptación para vivir en condiciones de cautiverio, así como en altas densidades de cultivo, además de brindar una carne de excelente calidad nutricional, brindando mayor comodidad en su cultivo y cuidado, sin embargo, la demanda en producción de tilapia ha orillado a las empresas acuícolas a incrementar su competitividad a pesar de diferentes complicaciones que reducen la eficiencia en producción y mantenimiento. Entre las principales complicaciones de producción se encuentran la aparición de enfermedades infecciosas, que en si bien varias de ellas son controladas mediante antibióticos, el uso intensivo de estos induce a largo plazo resistencia bacteriana, destrucción de poblaciones microbianas en el ambiente acuícola y deficiencias en el sistema inmunológico de los organismos (Vásquez *et al.*, 2012). Por estos motivos, se han buscado alternativas para mejorar la calidad de producción y sin emplear antibióticos, entre las alternativas que se han propuesto destaca el uso de probióticos, los cuales han demostrado efectos positivos en el control de enfermedades bacterianas al inducir diferentes modificaciones que mejoran el sistema inmunológico, además de incrementar las tasas de sobrevivencia de los organismos cultivados.

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser utilizados como suplemento alimenticio confiere un efecto fisiológico benéfico sobre el hospedero cuando se administran en cantidades adecuadas (FAO/WHO, 2001). Estos microorganismos tienen la capacidad de modular el sistema inmunológico innato, los mecanismos por los cuales los probióticos pueden modular aspectos relacionados con la respuesta inmune innata, son la expresión de genes proinflamatorios y la expresión de receptores en la mucosa que disparan la respuesta inmune inespecífica (Falco *et al.*, 2012; Caían *et al.*, 2012), así mismo aumentan los niveles de células y proteínas relacionadas con la inmunidad inespecífica, producen sustancias antimicrobianas y presentan antagonismo frente a organismos patógenos (Gómez y Balcázar, 2008). Así mismo, ayudan a la regeneración de células epiteliales, al reforzamiento de las uniones estrechas de los enterocitos y a la producción de linfocitos intraepiteliales y granulocitos acidófilos en la mucosa (Vásquez *et al.*, 2012). Es importante mencionar que, si bien,

se han realizado muchas investigaciones encaminadas a evaluar el efecto de probióticos en la dieta de los peces con el fin de mejorar parámetros productivos, son pocos los estudios relacionados con la respuesta del sistema inmunológico. Debido a esto, es importante evaluar la respuesta inmunológica de *O. niloticus* (tilapia) mediante el uso de diferentes probióticos, en este proyecto de investigación se evaluaron los probióticos INVE y *Rhodococcus sp.* en la dieta de *O. niloticus* y las modificaciones en su sistema inmunológico.

## 2 ANTECEDENTES

### 2.1 Generalidades de la *O. niloticus*

*O. niloticus* llamado comúnmente tilapia pertenece a la familia *Cichlidae*, es originaria de ríos y lagos de África, la tilapia es capaz de adaptarse a distintas condiciones como ríos o estanques, dulces o salinos, así como corrientes lentas con zonas poco profundas, así mismo, *O. niloticus* es capaz de tolerar temperaturas entre 24 a 32 °C (Betancourt, 2014).

El sistema digestivo de *O. nilocotus* lleva a cabo el procesamiento y la absorción de nutrientes, así mismo, el intestino es fundamental para el equilibrio hidroelectrónico y la regulación endocrina, este actúa como barrera de defensa física y química contra patógenos que tienen interacción con el organismo mediante el alimento ingerido o del agua circundante (Cornejo, 2017; Betancourt, 2014).

### 2.2 Generalidades de *Rhodococcus*

*Rhodococcus* es un género de bacterias grampositivas aerobias inmóviles, relacionadas con *Mycobacterium* y *Corynebacterium*. Si bien algunas especies son patógenas, la mayoría son benignas y prosperan en diferentes ecosistemas secos y acuáticos. Así mismo, se ha descrito que dicho género ha sido empleado como probiótico en *Puntius conchoni* donde fue capaz de aumentar la sobrevivencia, el crecimiento y la coloración de los peces, en *Salvelinus fontinalis* aumento la sobrevivencia, y en *Oncorhynchus mykiss* brindó resistencia a la infección por *Vibrio anguillarum* (Sharifuzzaman *et al.*, 2011; Boutin *et al.*, 2013; Garnillo *et al.*, 2016).

### 2.3 Sistema inmunológico

El sistema inmunológico protege al organismo de diferentes sustancias y patógenos nocivos para los individuos mediante el reconocimiento de antígenos que se encuentran en la superficie de células, virus, hongos y bacterias. La respuesta inmunológica se puede dividir en dos tipos la innata y la adquirida.

La respuesta innata es un sistema complejo de defensas que consiste en barreras que impiden que los materiales dañinos ingresen en el cuerpo, en el caso de mamíferos existen barreras como moco, sudor, piel, lágrimas entre otros componentes secretados, por otro lado, las barreras físicas en peces óseos son espinas, escamas, piel, membranas mucosas y la producción de compuestos de secreción como son lisozimas, factores del complemento, proteína C reactiva, transferrina, proteasas, lectinas e eicosanoides. Otro componente importante tanto en mamíferos como en peces es la respuesta celular iniciada por reconocimiento de antígenos por parte de receptores de reconocimiento de patógenos (PRR del inglés Pattern Recognition Receptors), dichos receptores inducen activación celular en las células dendríticas, monocitos y los macrófagos promoviendo la producción de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  y la producción de radicales libres del oxígeno y de nitrógeno como anión superóxido y óxido nítrico que promueven la eliminación del patógeno (Vega et al., 2009).

Particularmente en los peces óseos, los macrófagos y monocitos son las principales células fagocíticas de los peces, los monocitos aparecen en los eventos tempranos de inflamación en diferentes enfermedades y juegan un papel central en la patogénesis de algunas entidades particulares como estreptococos y aeromonas entre otras, en las cuales estas células son usadas por los patógenos como vehículo para eludir la respuesta inmunológica (Penagos *et al.*, 2009).

Por otro lado, la respuesta adquirida consiste en el procesamiento y presentación de antígeno por parte de células dendríticas, monocitos y macrófagos, éstas al detectar y fagocitar al patógeno o sus productos, migran a los órganos linfoides primarios y secundarios (mamíferos: ganglios linfáticos y bazo; peces: hígado y bazo), donde presentan antígeno a linfocitos T y B respectivamente, activando y expandiendo las clonas que reconocen a los antígenos del patógeno. Los linfocitos T pueden diferenciarse a linfocitos T citotóxicos o linfocitos T cooperadores permitiéndoles cumplir diferentes papeles dependiendo del patógeno, por otro lado, los linfocitos B en el bazo pueden diferenciarse a linfocitos B de memoria que se expandirán clonalmente permitiendo que algunos migren de regreso a la médula ósea en mamíferos o al riñón en peces y otros puedan diferenciarse a células plasmáticas productoras de anticuerpos que contribuirán a la opsonización del patógeno (Rubio, 2010).

Uno de los procesos más importantes en la respuesta inmunológica específica, es protagonizada por parte de los linfocitos B diferenciados a células plasmáticas que producen anticuerpos, moléculas que reconocen y promueven la eliminación de patógenos mediante la opsonización y la neutralización, en mamíferos existen 5 diferentes tipos de anticuerpos IgG, IgM, IgA, IgD e IgE que presentan diferentes funciones en el organismo, mientras en peces óseos se producen 3 tipos diferentes de anticuerpo IgM, IgD e IgT/Z. Si bien se sabe que en peces la producción de IgM es fundamental en el plasma, mucus y bilis, aún no se conocen claramente los mecanismos por los cuales estos anticuerpos aparecen en el mucus y bilis. Por el otro lado, los papeles de la IgD e IgT/Z no se han dilucidado (Rombout *et al.*, 2014; Ruiz, 2003).

#### 2.4 Uso de probióticos para promover la respuesta inmunológica

El término probiótico se define como un conjunto de microorganismos vivos que al ser adicionados en cantidades suficientes brindan beneficios a la salud del hospedero (FAO/WHO, 2001). Estos probióticos pueden ser desde bacterias lácticas hasta otros microorganismos como levaduras. Existen una serie de características que se deben estimar para ser considerados probióticos, como: ser habitantes normales del tracto gastrointestinal, no ser patógeno ni tóxico, tener tiempo corto de reproducción, ser estables al contacto con bilis, ácido, enzimas y oxígeno, tener habilidad para adherirse a la mucosa intestinal, mostrar potencial de colonización en el tracto gastrointestinal y producir sustancias antimicrobianas, sin embargo una de las características más importantes es que debe tener la capacidad de exclusión de microorganismos patógenos (Monroy *et al.* 2012; 2015).

El empleo de probióticos como parte de la manipulación microbiana en la dieta para combatir estos patógenos gastrointestinales en organismos acuáticos es un método efectivo y una de las estrategias más prometedoras para la producción de peces (Partida, 2009). Estos microorganismos presentan diferentes características que les permiten ayudar a sus hospederos como: la capacidad para ingresar al individuo hospedero y mantenerse vivos por un largo periodo; la capacidad para competir contra patógenos por los nutrientes que hay en el medio y la acción estimulante sobre el sistema inmunológico del huésped, mediante la modulación en la permeabilidad de la mucosa intestinal y procesamiento de diferentes ácidos grasos de cadena larga a ácidos grasos de cadena corta (Monroy *et al.* 2012).

Entre los reportes del uso de probióticos en animales acuáticos resaltan Marzouk y colaboradores en el 2008 cuando reportaron que al adicionar *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae* como



probióticos en la dieta de *O. niloticus*, estas se adhirieron a las paredes gastrointestinales inhibiendo la unión de otras bacterias en el intestino. Posteriormente, Esteban y colaboradores en 2001, informaron que *S. cerevisiae* estimulaba de la respuesta inmune innata y por lo tanto protegía a los peces de infecciones.

Por otro lado, Cornejo en 2017 reportaron variaciones morfométricas en el intestino de *Oreochromis sp.* (Tilapia roja) al enriquecer el alimento con prebióticos y probióticos, se emplearon 600 alevines y 600 juveniles de tilapia roja, aplicando cuatro tratamientos: alimentación con concentrado comercial, alimentación con concentrado comercial y prebiótico comercial Oregostim®, alimentación con concentrado comercial y probiótico comercial Biosa®, alimentación con concentrado comercial más probiótico comercial Biomos®, observando aumento en el grosor y tamaño de vellosidades en alevines y juveniles en todos los tratamientos donde se incluyeron probióticos. En una línea de investigación similar, Luna y colaboradores en 2013, evaluaron el efecto inmunoestimulante de bacterias ácido-lácticas y levaduras (Camaronina®), adicionadas en el alimento, en *Litopenaeus vannamei*. Incrementando el crecimiento y supervivencia y disminuyendo la expresión significativa de genes de profenoloxidasa, lisozima y transglutaminasa. Otro probiótico comercial ampliamente usado es el probiótico INVE® que ha sido catalogado como uno de los mejores en el mercado de camarón y ha sido evaluado ampliamente organismos como *Litopenaeus vannamei* (Silva *et al.*, 2011), *Crassostrea virginica* (Karim *et al.*, 2013) y *Pollachius pollachius* (Gatesoupe, 2002) mostrando un importante aumento en crecimiento y supervivencia. En cuanto al uso de prebióticos, Gutiérrez y colaboradores en 2015, evaluaron el efecto del prebiótico inulina y ácido fúlvico, en *Litopenaeus vannamei*. Estos compuestos no modificaron el crecimiento, sin embargo, al enfrentar a los camarones contra el virus del punto blanco, estos organismos presentaron resistencia contra la infección.

Si bien el uso de diferentes especies de bacterias como probióticos se ha incrementado, cabe resaltar que no todas inducen cambios, uno de estos casos fue reportado por Betancourt en 2014 donde usó a *Lactobacillus plantarum* con el fin de promover el crecimiento y la sobrevivencia de alevines y juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*), concluyendo que *L. plantarum* no indujo cambios significativos en la sobrevivencia y crecimiento de los organismos alevines y juveniles de tilapia.

### 3 OBJETIVOS

General:

- Evaluar la respuesta inmunológica de *Oreochromis niloticus* mediante el uso de probióticos en su dieta.

Específicos:

- Evaluar el efecto de los probióticos INVE y *Rhodococcus sp.* en la supervivencia de *O. niloticus*
- Evaluar el incremento de monocitos en sangre periférica de *O. niloticus* alimentados con los probióticos INVE y *Rhodococcus*.

### 4 METODOLOGÍA

#### 4.1 Peces

Se obtuvieron 45 organismos juveniles de *O. niloticus*, del Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos., los peces se transportaron al Laboratorio de Análisis Químico del Alimento Vivo del DEHA (Departamento del Hombre y su Ambiente) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, CDMX, Mex.

Los organismos se mantuvieron en un periodo de aclimatación de 30 días. Posteriormente, los peces se distribuyeron en dos tratamientos con tres réplicas c/u, más 1 grupo control, sin la adición de probiótico. Tratamiento 1 probiótico comercial INVE, tratamiento 2 probiótico *Rhodococcus*. Las unidades experimentales consistieron en peceras de 40 L de capacidad al 70 % de su capacidad con agua dulce sin cloro a una temperatura de 21° C, aireación constante y un fotoperiodo de luz-oscuridad de 12-12. Al tratamiento 1 alimentó con .02 g. del probiótico comercial INVE, al tratamiento dos se le adicionó una concentración de  $1 \times 10^8$  de la cepa *Rhodococcus sp.* (extraída previamente del intestino de trucha arcoíris) usando como vector aproximadamente a 50 artemias por pez y los tres últimos fueron alimentados con hojuelas (alimento comercial sin probióticos) administrando el 5% del total su peso. Los organismos de los tres tratamientos se alimentaron dos veces al día, el periodo de experimentación se llevó a cabo durante 60 días, dando inicio el 29 de julio de 2019 y concluyendo el 23 de septiembre del mismo año. Los desechos sólidos (heces y alimento) se retiraron con redes de luz de malla de 0.3 mm y con sifón, una vez por semana.

#### 4.2 Supervivencia y crecimiento

Diariamente se llevó a cabo el registro de la supervivencia y cada quince días se obtuvieron los datos biométricos como longitud y peso, utilizando un vernier y una balanza digital (Nimbus). Las biometrías se realizaron los días 29 de julio, 12 y 26 de agosto, 09 y 23 de septiembre de 2019.

#### 4.3 Análisis inmunológico

La evaluación del efecto de los probióticos en las poblaciones de leucocitos se realizó a los 60 días de prueba, para lo cual se seleccionaron dos peces de forma aleatoria por tratamiento y se obtuvieron muestras de sangre de aproximadamente 100  $\mu$ l de la vena caudal con jeringas de insulina estériles, la muestra de cada individuo se colocó en portaobjetos realizando frotis y posteriormente se realizó tinción de Giemsa. Las proporciones en las poblaciones de leucocitos se determinó por conteo diferencial de leucocitos con ayuda de la cámara de recuento celular.

Las muestras teñidas fueron observadas con un microscopio óptico de la marca Olympus CX31 y se realizó el conteo y diferenciación de células en cinco campos diferentes elegidos de forma al azar y se obtuvo el valor promedio por campo.

#### 4.4 Análisis estadísticos

Se realizó una base de datos en el software Excel 2013 para un posterior análisis GraphPad Prisma 8

### **5 RESULTADOS**

#### 5.1 Supervivencia

Los grupos experimentales no presentaron mortalidad a lo largo del experimento, reportando un 100% de supervivencia.

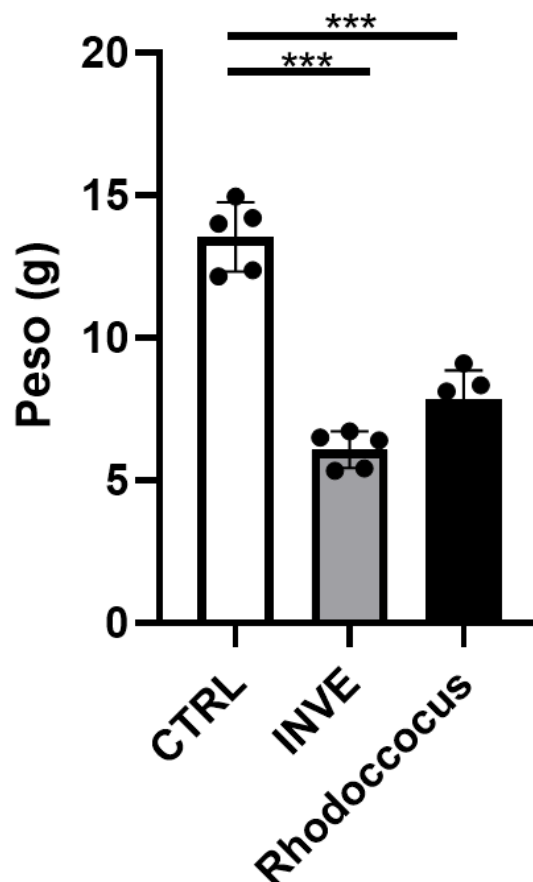
#### 5.2 Crecimiento

Se observó que el crecimiento de los peces tanto en peso y longitud del grupo control fue constante a lo largo del experimento.

El grupo alimentado con el probiótico comercial INVE mostró una aparente disminución de peso a los 15 días de haber iniciado el experimento posiblemente debido al cambio de alimentación. La longitud se mantuvo en aumento durante el tratamiento.

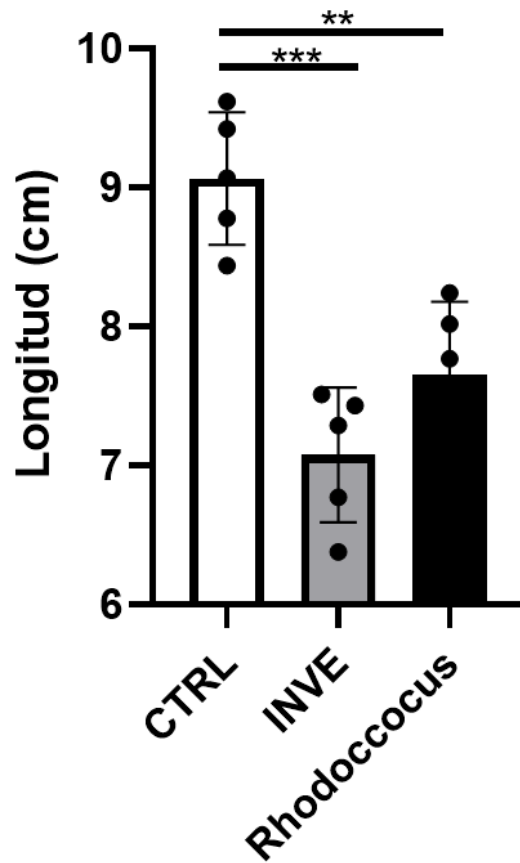
El grupo alimentado con la cepa *Rhodococcus sp.* también mostró una aparente disminución de peso a los 15 días de haber iniciado el experimento, esto pudo deberse al cambio de alimentación mientras que la longitud aumentó constantemente.

Las biometrías adquiridas en diferentes tiempos mostraron diferencias entre cada tratamiento, donde se puede identificar que el grupo control fue el que tuvo el peso promedio más alto durante los 60 días, mientras que los grupos INVE y *Rhodococcus* (valores de  $p= 0.0001$  y  $p= 0.0001$  respectivamente) presentaron pesos menores durante el experimento (Figura 1).



**Figura 1.** Comparación de peso en los cinco diferentes tiempos de los tres tratamientos. Shapiro-Wilk test= datos normales, ANOVA de una vía, \*=  $p < 0.05$ , \*\*=  $p < 0.005$ , \*\*\*=  $p < 0.0005$ .

De forma similar, la longitud promedio del grupo control fue la más alta en los cinco períodos, seguido por los grupos INVE y *Rhodococcus* (valores de  $p= 0.0001$  y  $p= 0.0019$  respectivamente) (Figura 2).



**Figura 2.** Comparación de longitud de los tres tratamientos en los cinco diferentes tiempos, Shapiro-Wilk test= datos normales, ANOVA de una vía, \*=  $p < 0.05$ , \*\*=  $p < 0.005$ , \*\*\*=  $p < 0.0005$ .

### 5.3 Diferencial leucocitario

Durante el conteo de células no se encontraron leucocitos, solo eritrocitos en los tres tratamientos. No mostrando diferencias entre ellos (Figuras 3 y 4).

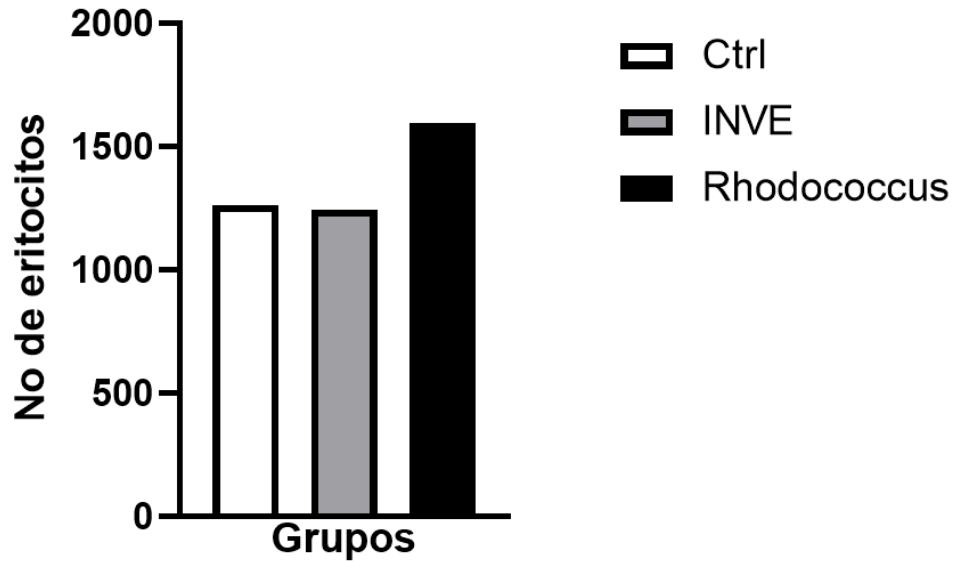


Figura 3. Número de eritrocitos por campo de cada uno de los tratamientos.

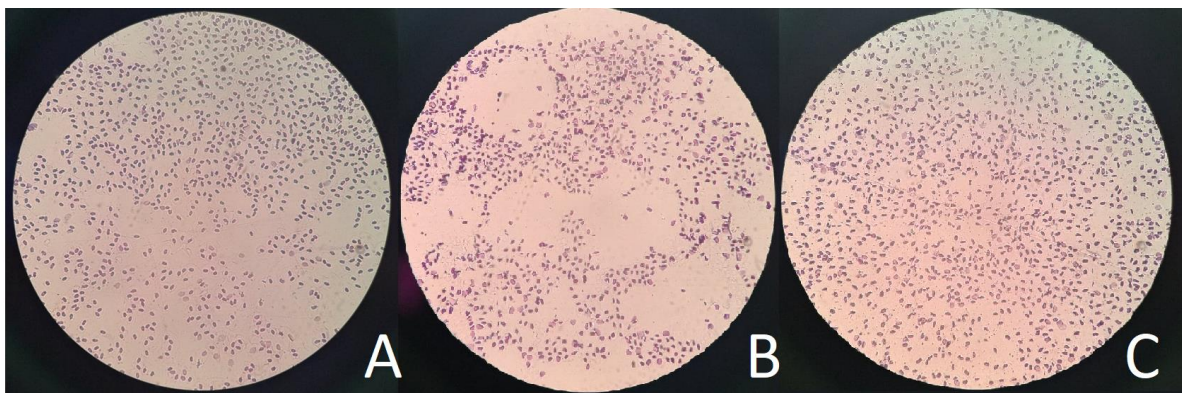


Figura 4. Imágenes de las tinciones, de los campos de los tres diferentes grupos de tratamiento (A: Control; B: INVE y C: *Rhodococcus*).

## 5 DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio no mostraron efectos positivos con el uso de probióticos ya que los peces del tratamiento control fueron los que obtuvieron mejores resultados de crecimiento, esto es contrario a lo reportado en otros estudios donde se han utilizado probióticos (Estaban *et al.*, 2001; Marzouk *et al.*, 2008; Sharifuzzaman *et al.*, 2011; Luna *et al.*, 2013; Boutin *et al.*, 2013; Betancourt, 2014; Gutiérrez *et al.*, 2015; Garnillo *et al.*, 2016; Cornejo 2017), lo anterior posiblemente se debe a que las bacterias utilizadas en el grupo de *Rhodococcus* fueron aisladas de la trucha arcoíris y no de la tilapia, ya que según Balcazar en el 2006 hay mejores resultados cuando se trabajan bacterias

probióticas aisladas de los propios peces de interés por las diferencias en su microbiota intestinal, por otro lado, el grupo INVE también muestra resultados contrarios a los reportados en otras investigaciones (Gatesoupe, 2002; Silva *et al.*, 2011; Karim *et al.*, 2013) esto puede deberse a que las cantidades suplementarias de probiótico INVE a los organismos no fueron las adecuadas, inclusive en reportes anteriores con diferentes especies de hospederos las cantidades de probiótico INVE varían.

Cabe resaltar, que la sobrevivencia de los tres grupos no presentó cambios entre ellos, esto nos indica que estos probióticos cumplen con el requisito de no ser patógenos. Estos resultados concuerdan en parte con los reportados por Luna y colaboradores en 2013 y Betancourt en 2014 donde se evidenció que los probióticos no eran letales para los organismos. Por otro lado, en las muestras sanguíneas no se observó presencia de leucocitos quizá porque los peces estaban en estadio juvenil y no había suficiente muestra sanguínea, sin embargo, en las imágenes obtenidas los eritrocitos se observan bien conformados y se observa un ligero incremento de eritrocitos en el grupo *Rhodococcus*. Este ligero incremento en el número de eritrocitos concuerda con algunos beneficios reportados donde se utilizó a *Rhodococcus* en otras investigaciones (Sharifuzzaman *et al.*, 2011; Boutin *et al.*, 2013; Garnillo *et al.*, 2016), a pesar de este ligero incremento, los resultados indican que los probióticos evaluados no modifican las poblaciones de células del sistema inmunológico en sangre periférica, posiblemente para inducir un cambio significativo se requiere mayor cantidad de probiótico para inducir activación del sistema inmunológico y así mejorar las defensas inmunológicas en los peces.

## 6 CONCLUSIONES

- Los probióticos *Rhodococcus sp.* e INVE no tuvieron efecto positivo sobre la activación del sistema inmunológico de *O. niloticus*.
- Probablemente se requiere una dosis de probiótico más alta para obtener resultados significativos en las poblaciones celulares inmunológicas de sangre periférica y en el crecimiento de los peces.
- Los probióticos no afectaron la sobrevivencia en los tres tratamientos.
- Se identificó una mayor cantidad de eritrocitos en el grupo *Rhodococcus*.

## 7 REFERENCIAS

- Balcázar, J. L., I. De Blas, I. Zarzuela-Ruiz, D. Cunningham, D. Vendrell & J. L. Múzquiz. (2006). The role of probiotics in aquaculture (Review). *Veterinary Microbiology*, 114: 173-186.
- Betancourt, G. D. (2014). Efecto de *Lactobacillus plantarum* sobre el crecimiento y supervivencia de alevinos y juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). Universidad de Nariño. pp 34- 37
- Boutin S, Audet C & Derome N. (2013). Probiotic treatment by indigenous bacteria decreases mortality without disturbing the natural microbiota of *Salvelinus fontinalis*. *Can J Microbiol.* 2013 Oct ;59(10):662-70.
- Cornejo, D. G (2017). Respuesta morfológica intestinal en tilapia roja (*Oreochromis sp.*) alimentada con pellets enriquecidos con probióticos y prebióticos. Universidad Nacional de Colombia. pp 9-11.
- Esteban, M. A.; Cuesta A. Ortuno J. & Meseguer, J. (2001). Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin in gilthead seabream (*Sparus aurata*) innate immune response. *Fish and Shellfish immunol.*, 11, pp.305-315.
- FAO/WHO. Report of a joint FAO/WHO (2001) expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina. pp 1-5.
- Gatesoupe, F.-J. (2002). Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia nauplii* as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*. *Aquaculture*, 212(1-4), 347–360.
- Garnillo, C.V.; Monroy M.C. & Castro J. (2016). *Rhodococcus sp.* as probiotic bacteria for increase the survival, growth and coloration of fish *Puntius conchonius*. *Scientific Journal of Animal Science*. 512. 370-375. 10.14196/sjas.v5i12.2341.
- Gutiérrez, D. A.; Luna, G. A.; Fierro, C. JA.; Álvarez, R. P.; Flores, M. MC.; Miranda, S. S.; Medina, B. V. & Escamilla, M. R. (2015). Efecto de la inulina y del ácido fúlvico en la supervivencia, crecimiento, sistema inmune y prevalencia de WSSV en *Litopenaeus vannamei*. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 43(5): 912-92.
- Karim, M., Zhao, W., Rowley, D., Nelson, D., & Gomez-Chiarri, M. (2013). Probiotic Strains for Shellfish Aquaculture: Protection of Eastern Oyster, *Crassostrea virginica*, Larvae and Juveniles Against Bacterial Challenge. *Journal of Shellfish Research*, 32(2), 401–408.
- Luna, G. A.; Moreno, H. JT.; Campa, C. Á.; González, O. HA.; Fierro, C. JA.; Álvarez, R. P. & Bueno, I. M. (2013). Respuesta inmune y expresión de genes en el camarón blanco



- (*Litopenaeus vannamei*) inducida por inmunoestimulantes microbianos. Lat. Am. J. Aquat. Res., 41(5): 898-907.
- Marzouk, M. S.; Moustafa, M. M. & Nermeen, M. M. (2008) The influence of some probiotics on the growth performance and intestinal microbial flora of *O. niloticus*. Dept. of Fish Diseases and Management, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University. pp.1059- 1071.
  - Monroy MC.; Castro BT.; Castro MG, Castro MJ. & De Lara AR. (2012). Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos acuáticos. Contacts 85,11-18.
  - Monroy MC.; Castro MJ.; Castro MG.; De Lara AR.; Ocampo JA & Cruz CI. (2015). El uso de cinco cepas probióticas para la determinación de la sensibilidad (positiva o negativa) del crecimiento de bacterias patógenas (in vitro), aisladas de peces enfermos. E-BIOS. Vol. 1 (7): 25-31.
  - Norzagaray, C. M.; Muñoz, S. P.; Sánchez, V. L.; Capurro, F. L. & Llánes, C. O. (2012). Acuicultura: estado actual y retos de la investigación en México. Revista científica de la Sociedad Española de Acuicultura. (37) pp. 20-25
  - Partida, A. B. (2009). Efecto de los prebióticos y microorganismos con potencial probiótico en el crecimiento, supervivencia y sistema inmune del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, cultivado en condiciones experimentales pp. 1-8. Instituto Politécnico Nacional, departamento de Acuicultura.
  - Peganos, G., Barato, P. & Iregui C. (2009). Sistema inmune y vacunación de peces. Acta biol. Colomb. Vol. 14 (1), 3 - 24.
  - Rodak C. (2014). Atlas de hematología y clínica. 4° ed. Editorial Médica Panamericana, pp 10.
  - Rombout J.H.; Yang G. & Kiron V. (2014). Adaptive immune responses at mucosal surfaces of teleost fish. Fish Shellfish Immunol. 40:634–643.
  - Rubio G. M. (2010). Inmunología de peces óseos. Rev Mex Cienc Pecu. 1(1):47-57
  - Ruiz, I., Fernández, A. & Blas, I. (2003). El sistema inmune de los teleósteos (III): Respuesta inmune específica. Revista AquaTIC, nº 18, pp. 33-38.
  - Sébastien Boutin, Céline Audet & Nicolas Derome (2013). Probiotic treatment by indigenous bacteria decreases mortality without disturbing the natural microbiota of *Salvelinus fontinalis*. Canadian Journal of Microbiology, 2013, 59:662-670
  - Sharifuzzaman, S. M., Abbass, A., Tinsley, J. W., & Austin, B. (2011). Subcellular components of probiotics *Kocuria* SM1 and *Rhodococcus* SM2 induce protective immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) against *Vibrio anguillarum*. Fish Shellfish Immun. 30, 347–353.

- Silva, E. F., Soares, M. A., Calazans, N. F., Vogeley, J. L., do Valle, B. C., Soares, R., & Peixoto, S. (2011). Effect of probiotic (*Bacillus* spp.) addition during larvae and postlarvae culture of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 44(1), 13–21.
- Vásquez, M. A.; Rondón, I. & Eslava, P. (2012) Inmunoestimulantes en teleósteos: Probióticos, B-glucanos y LPS. *Orinoquia*, vol. 16, núm. 1, pp. 46-62
- Vega, M. T., Moreno, M. C., García, V. & López R. (2010). Respuesta inmune en peces. Instituto Politécnico Nacional. 24, pp 1-6.