

Aditivos Alimentarios para Camarones Marinos: Salud y Nutrición

Felipe do Nascimento Vieira, Norha Constanza Bolivar, Esmeralda Chamorro Legarda,
Delano Dias Schleder¹, Walter Quadros Seiffert, Leila Hayashi
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de
Aqüicultura, Laboratório de Camarões Marinhos. Servidão dos Coroas, 503, Barra da
Lagoa, Florianópolis, SC. CEP 8061-600. E-mail: felipe.vieira@ufsc.br

Resumen

El sector de la camaronicultura viene enfrentando dificultades relativas al surgimiento de enfermedades. Para la prevención de mortalidades, el uso profiláctico de fármacos quimioterapéuticos es una práctica común. Sin embargo, debido al residuo dejado en la carne de los animales y la selección de bacterias resistentes, el uso de antibióticos en la acuicultura fue prohibido en varios países. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de estrategias alternativas para el control de enfermedades en el cultivo de camarones, tales como el uso de probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y compuestos bioactivos. Los probióticos son bacterias benéficas, que al ser suministradas colonizan el tracto digestivo de los animales de cultivo con el objetivo de mejorar la salud de estos animales. Los probióticos actúan en la microbiota del hospedero inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas, ya sea por la producción de compuestos antimicrobianos o por exclusión competitiva. Los prebióticos son ingredientes alimentares no digeribles que afectan benéficamente el hospedero estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de un determinado grupo de bacterias benéficas en el tracto digestivo. Otro aditivo que viene ganando espacio en la industria del cultivo de camarones son los ácidos orgánicos o sus sales. Los ácidos orgánicos o sus sales ejercen efectos sobre el desempeño zootécnico de los animales durante los cultivos inhibiendo bacterias patógenas en el tracto intestinal del camarón. Las macroalgas también pueden ser usadas como aditivos alimentares para camarones ya que tienen actividad antimicrobiana frente a bacterias y poseen compuestos que pueden actuar como inmunoestimulantes para camarones.

Palabras claves: Probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, macroalgas.

Vieira, F. et al., 2017. Aditivos alimentarios para camarones marinos: salud y nutrición. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., López Acuña, L.M. y Galaviz-Espinoza, M. (Eds), Investigación y Desarrollo en Nutrición Acuicola Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp. 78-105.

1. Introducción

La producción acuícola mundial creció progresivamente en las últimas décadas a una tasa media anual del 3,2 por ciento, alcanzando una producción de 106 millones de toneladas en 2015 (FAO-FIGIS 2017) y superando la captura (93,7 millones de toneladas). Además, la producción mundial de camarones marinos en cautiverio, alcanzó la marca de 4,8 millones de toneladas producidas en 2015 (FAO 2017). El camarón blanco del pacífico, *Litopenaeus vannamei*, es la especie más cultivada siendo responsable del 79,5% del volumen total producido (FAO 2017).

Sin embargo, la intensificación de los cultivos, la contaminación y los disturbios ecológicos y alimentarios llevaron al surgimiento de enfermedades en el cultivo de camarones (Defoirdt *et al.* 2011) principalmente de orígenes virales y bacterianos, resultando en pérdidas importantes en los cultivos. En 2012 y particularmente en 2013 los volúmenes de producción de cultivo de camarón disminuyeron como resultado de la aparición de diferentes enfermedades, como el síndrome de mortalidad precoz (EMS) causada por una cepa de *Vibrio parahaemolyticus*, en algunos países de Asia y América Latina (Tran *et al.* 2013).

Las infecciones causadas por bacterias del género *Vibrio* se consideran un problema importante en el cultivo de camarones, teniendo como síntomas anorexia, inactividad, baja tasa de crecimiento, necrosis muscular y, por consiguiente, mortalidad (Chiu *et al.* 2007). Los antibióticos se han utilizado comúnmente como tratamiento contra las vibriosis. Aunque algunos de estos productos pueden disminuir la incidencia de mortalidad, el mal uso en la acuicultura ha llevado a la aparición de bacterias resistentes (Defoirdt *et al.* 2011). Además, existe una preocupación sobre los impactos potenciales que los residuos químicos puedan causar en la salud humana y el medio ambiente. Debido a esto, la Unión Europea ha prohibido el uso de antibióticos en la producción animal, siendo esta una tendencia mundial.

Por lo tanto, medidas para proteger los cultivos sin uso de antibióticos están siendo probados y adoptados por productores del mundo entero como el uso de aditivos alimentarios, que además de efecto en la salud, actúan en la nutrición, auxiliando en la mejora del desempeño de los camarones. En este escenario, destacamos los probióticos,

prebióticos, ácidos y sales orgánicas y derivados de macroalgas pardas, cuyos conceptos y usos en la carcinicultura marina se abordarán en este capítulo.

2. Probióticos

2.1. Definición

Elie Metchnikoff es considerado el primer investigador en trabajar con el concepto de probióticos (Fuller 1992). Describió los probióticos como "microbios ingeridos con el objetivo de promover la buena salud". Esta misma definición fue modificada posteriormente por Fuller (1992) para "un suplemento alimenticio microbiano que afecta benéficamente al animal hospedero mejorando su balance microbiano intestinal".

Estas definiciones se aplicaron originalmente a animales terrestres. Pero para la acuicultura esta definición puede ser insuficiente, pues en ambientes acuáticos hay una constante y mayor interacción entre los organismos cultivados y los microorganismos presentes en el ambiente. Teniendo esto en cuenta, Gatesoupe (1999) define los probióticos para la acuicultura como "células microbianas que se suministran de tal manera que entren en el tracto gastrointestinal y que sean capaces de mantenerse vivas, mejorando la salud de los animales".

Igualmente, Gram *et al.* (1999) ampliaron la definición eliminando la restricción a la mejora sólo del intestino: "un suplemento microbiano vivo que afecta benéficamente al animal hospedero mejorando su balance microbiano". Y posteriormente, la FAO / WHO (2001) define los probióticos como "microorganismos vivos que al ser suministrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios para la salud del hospedero".

Según Fuller (1992), estos microorganismos vivos deben cumplir algunas características esenciales para ser utilizados como probióticos: 1) Ser efectivos en la mejora de la salud del hospedero, 2) No ser tóxicos o patógenos, 3) Deben ser viables y capaces de sobrevivir al metabolismo digestivo 4) Ser capaces de colonizar el epitelio intestinal y de mantenerse estables durante un largo período de tiempo y 5) Poseer estabilidad en condiciones de almacenamiento y de campo.

2.2. *Mecanismo de acción de los probióticos*

Hay varias teorías que explican el modo de actuación de los probióticos en el equilibrio de la microbiota intestinal, en la mejora de la digestión de nutrientes y en la estimulación del sistema inmune.

2.2.1. *Equilibrio de la microbiota intestinal*

La flora bacteriana del tracto intestinal es un recurso natural completo que puede ser utilizado en un esfuerzo para reducir el impacto de bacterias patógenas en los cultivos. En animales acuáticos la microbiota intestinal está compuesta principalmente por bacterias gram negativas como *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* o *Plesiomonas*, dependiendo de las condiciones del medio acuático. Sin embargo, estas bacterias pueden ser patógenas en condiciones de estrés, tanto en peces como en camarones.

Los probióticos han demostrado tener la capacidad de reducir las poblaciones de bacterias patógenas modificando la microbiota intestinal, permitiendo la colonización de bacterias benéficas y consecuentemente mejorando la salud del hospedero (Gatesoupe 1999)

Las bacterias benéficas pueden competir por nutrientes y / o espacio y son capaces de producir diferentes compuestos inhibitorios, sirviendo como antagonistas de bacterias patógenas. Esta capacidad de antagonismo es una de las principales propiedades a tener en cuenta a la hora de elegir un probiótico. Estudios ya demostraron la capacidad *in vitro* de inhibición de varios probióticos frente a diferentes patógenos (Balcázar *et al.* 2007a; Vieira *et al.* 2010). Esta capacidad inhibitoria se debe a la producción de compuestos como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, sideróforos y / o bacteriocinas (Vázquez *et al.* 2005).

Según Vázquez *et al.* (2005) el poder de inhibición de bacterias ácido-lácticas utilizadas como probióticos contra patógenos de peces es principalmente debido a la producción de ácido láctico y acético. Por otro lado, bacterias como *Pseudomonas fluorescence* poseen la capacidad de inhibir el crecimiento del patógeno *Vibrio anguillarum* por competición por minerales como el hierro (Gram *et al.* 1999).

Además de la producción de compuestos inhibitorios y de la competencia por nutrientes, los probióticos pueden competir por lugares de adhesión a los lugares de fijación por fuerzas pasivas, por interacciones electrostáticas, hidrofóbicas y estéricas, ácidos lipoteicoicos y por estructuras específicas de adhesión. La capacidad de adhesión de algunos probióticos como las bacterias ácido lácticas, ya ha sido comprobada por Balcázar *et al.* (2007a) donde demostraron que estas bacterias disminuyeron la adhesión de bacterias patógenas en la mucosa intestinal de la trucha.

Así, la adhesión y colonización de las superficies mucosas junto con la producción de compuestos inhibitorios son posibles mecanismos contra patógenos a través de una competencia por sitios de unión y nutrientes.

2.2.2. Mejora de la digestión de nutrientes

Los probióticos también pueden auxiliar en la digestión, ayudando al hospedero en la absorción o producción de nutrientes. Después de adherirse al tracto intestinal, el probiótico necesitará carbohidratos para su crecimiento y comenzará a producir enzimas extracelulares como proteasas, lipasas, amilasas y carbohidrasas, que pueden participar en la digestión de nutrientes en los camarones (Ochoa-Solano & Olmos-Sotos 2006, Wang *et al.* 2007). Esta producción enzimática puede aumentar la digestibilidad de ingredientes y también ayudar en la pre-digestión de nutrientes de origen vegetal presentes en la ración, mejorando parámetros zootécnicos, como crecimiento y eficiencia alimenticia.

La estimulación de la actividad enzimática por probióticos en camarones ha sido reportada por Wang *et al.* (2007). Este estudio comprobó que el probiótico *Bacillus* sp. mejoró el crecimiento y la actividad enzimática en *L. vannamei*, recomendando su uso para estimular la producción del cultivo.

Del mismo modo, un estudio con *L. vannamei* evidenció una mayor actividad de amilasa cuando los camarones fueron alimentados con el probiótico *Bacillus* sp. (Yu *et al.* 2009), y un otro estudio sugiere que el uso de probióticos en larvas de *L. vannamei* añadidos al agua en ciertas concentraciones, puede aumentar la actividad de algunas enzimas e incrementar la supervivencia (Zhou *et al.* 2009). Por lo tanto, la modificación de la microbiota intestinal por bacterias probióticas puede ser una fuente suplementaria de

alimento ofreciendo vitaminas y aminoácidos a través del aumento de la actividad enzimática.

2.2.3. Estimulación del sistema inmune

La microbiota normal del tracto intestinal influye en el sistema inmune del organismo formando parte de una red de protección inmunológica y no inmunológica, otorgando protección contra patógenos o tolerancia contra bacterias comensales presentes en el epitelio (Sanz & Palma 2009). Por lo tanto, al colonizar el tracto intestinal, los probióticos no sólo inhiben patógenos como también son capaces de estimular el sistema inmunológico del hospedero por poseer en sus paredes celulares lipopolisacáridos, peptidoglucanos y β -glucanos actuando como moléculas señalizadoras para activar el sistema inmune (Akhter *et al.* 2015).

Los camarones como invertebrados, carecen de un sistema inmune específico. Por lo tanto, su sistema de defensa está basado en un sistema inmune innato para reconocer a los patógenos invasores. El sistema inmunológico de los crustáceos está íntimamente relacionado con su sangre o hemolinfa y con las células circulantes, los hemocitos. Los hemocitos además de estar involucrados en la fagocitosis, también son responsables de la producción de melanina a través del sistema pro-fenoloxidasa que es un componente importante en la reacción de la defensa celular (Barraco *et al.* 2008).

El sistema inmunológico puede ser estimulado para mejorar la resistencia frente a diferentes enfermedades. En camarones, bacterias probióticas como *L. plantarum* es capaz de inducir la modulación del sistema inmune de *L. vannamei* tras infección con *V. alginolyticus* e *V. harveyi* aumentando su resistencia (Chiu *et al.* 2007; Vieira *et al.* 2010). Igualmente, camarones que recibieron *Streptococcus phocae* como probiótico tuvieron mayores conteos de hemocitos totales, mayor actividad de la enzima fenoloxidasa (PO) y mayor actividad fagocítica (Pattukumar *et al.* 2014).

2.3. Bacterias usadas como probióticos y sus efectos en la acuicultura

Existe una gran variedad de probióticos utilizados tanto en el cultivo de peces como de camarones. Las bacterias utilizadas comúnmente en la acuicultura pueden ser bacterias gram negativas o gram positivas.

2.3.1. Bacterias Gram negativas

Dentro del grupo de las bacterias gram negativas utilizadas como probióticos, las bacterias más comunes pertenecen a los géneros *Aeromonas*, *Pseudomonas* y *Vibrios*.

El género *Aeromonas* posee capacidad inhibitoria *in vitro* por producción de bacteriocinas frente a varios patógenos de importancia en la acuicultura. Estudios han confirmado esta capacidad inhibitoria *in vivo* en truchas, donde la suplementación con *Aeromonas* aumentó su resistencia frente a la infección con *Yersinia ruckeri* (Abbas *et al.* 2010), al igual que ayudó a aumentar la sobrevivencia total en el cultivo de *Artemia franciscana* (Gunasekara *et al.* 2010).

Cepas de *Pseudomonas* también poseen capacidad de inhibición frente a diferentes patógenos que afectan los cultivos de camarones. Como ejemplo, cepas de *Pseudomonas marina* son capaces de producir compuestos que inhiben el crecimiento de vibriones patógenos de camarón como *Vibrio harveyi*, *Vibrio fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *Vibrio damsela* y *Vibrio vulnificus* (Chythanya *et al.* 2002). Ya *in vivo*, el uso de *Pseudomonas* sp. en el cultivo aumentaron la resistencia de *Penaeus monodon* al ser desafiados con *V. harveyi* (Pai *et al.* 2010).

Por otro lado, especies de *Vibrio* al ser utilizadas como probiótico pueden entrar a competir con otras bacterias del cultivo inhibiendo posibles patógenos del sistema ayudando a mejorar la salud del camarón, como también pueden ayudar a aumentar la resistencia frente a infección por otros *Vibrios* patógenos como *V. parahaemolyticus* (Balcázar *et al.* 2007b).

No obstante, según Kesacordi-Watson *et al.* (2012), el uso de bacterias gram negativas está sujeto al riesgo de transferencia de material genético causando resistencias o virulencias.

2.3.2. Bacterias Gram positivas

Las bacterias gram positivas más utilizadas como probióticos pertenecen al grupo de las bacterias ácido-lácticas y al género *Bacillus* (Akhter *et al.* 2015). Las bacterias del género *Bacillus* se caracterizan por producir endosporas en situaciones adversas en el medio ambiente lo que les confiere una ventaja de presentar mayor viabilidad a lo largo del tiempo.

Diversas especies de *Bacillus* se han utilizado como probióticos: *B. subtilis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus coagulans* (Cutting 2011). Estas bacterias son capaces de producir diferentes metabolitos secundarios como antibióticos y enzimas, inhibiendo patógenos y ayudando en la digestión de nutrientes.

Según Ochoa-Solano y Olmos-Sotos (2006), diversas cepas de *Bacillus* aislados de sedimentos marinos poseen la capacidad *in vitro* para degradar proteínas y otros compuestos derivados de la soja, así como la capacidad de producir enzimas que degradan los carbohidratos y los lípidos. Adicionalmente, cepas aisladas del cultivo de camarón son capaces de reducir poblaciones de *Vibrio* spp. totales del sistema de cultivo y mejoran la respuesta hemato-inmunológica del camarón (Ferreira *et al.* 2015) como también mejoran la calidad del agua de cultivo ayudando en la degradación de la materia orgánica del sistema (Song *et al.* 2011).

En la acuicultura, las especies de *Bacillus* son muy utilizadas en formulaciones comerciales de raciones por la capacidad de producir compuestos inhibitorios y enzimas, y por la facilidad de incorporación en las raciones debido a que sus esporas les confieren mayor resistencia. Sin embargo, fue comprobado que cepas de *B. subtilis* fueron responsables de causar lesiones en la cutícula de *P. monodon* (Wang *et al.* 2000) y más recientemente, un estudio describió una nueva enfermedad llamada WPD (del inglés, White Patch Disease) en el camarón *L. vannamei* causada por *B. cereus* causando manchas blancas opacas en el caparazón, necrosis, coloración azul blanquecina, pérdida de apetito, músculos pálidos y mortalidad (Velmurugan *et al.* 2015).

Por otro lado, tenemos a las bacterias ácido-lácticas que constituyen un grupo de bacterias catalasa-negativas, no esporuladas, en forma de cocos o bacilos y producen ácido láctico como principal producto final durante la fermentación de los carbohidratos. Son de hábitat anaeróbico, pero pueden ser aeróbicos facultativos y ácido tolerantes. Generalmente están asociadas con hábitats ricos en nutrientes. Sin embargo, pueden estar presentes en la flora nativa de la boca, intestino y tracto urinario de mamíferos. Las delimitaciones del grupo han sido objeto de algunas controversias, sin embargo los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus* forman parte de este grupo (Carr *et al.* 2002).

La clasificación de las bacterias ácido lácticas en diferentes géneros está basada en gran medida en la morfología, en el modo de fermentación de la glucosa, en el crecimiento a diferentes temperaturas, en la configuración del ácido láctico producido, en la capacidad para crecer en altas salinidades, y en su tolerancia a la acidez o alcalinidad (Carr *et al.* 2002).

Las bacterias ácido-lácticas además de producir diferentes compuestos antimicrobianos, también se caracterizan por replicarse fácilmente y por estimular la respuesta inmune no específica del hospedero (Carr *et al.* 2002; Balcázar *et al.* 2007a), desempeñando así un papel importante en el control de enfermedades.

En algunos peces, estudios han asociado a las bacterias ácido-lácticas como parte de su microbiota normal. Ya en camarones, las bacterias ácido lácticas no son dominantes, sin embargo, cuando son adicionadas en la alimentación pueden incrementar su población en el intestino, disminuyendo la prevalencia de *Vibrio* spp., aumentando la respuesta inmune frente a infección con patógenos y consecuentemente aumentando la sobrevivencia (Vieira *et al.* 2010, Bolívar-Ramírez *et al.* 2013).

3. Prebióticos

Los prebióticos son definidos como ingredientes alimentarios no digeribles (fibras), que afectan benéficamente al hospedero, estimulando el crecimiento y la actividad de un determinado número de bacterias en el intestino. Para que un compuesto pueda ser considerado prebiótico, él tiene que cumplir algunos presupuestos como: resistir a la hidrólisis ácida y enzimática del tracto intestinal, ser un sustrato selectivo para el crecimiento de bacterias benéficas, induciendo a efectos benéficos en la salud del animal (O'sullivan *et al.* 2010).

Los prebióticos sirven como fuente de energía para las bacterias intestinales pudiendo ser llamado de sacáridos. Existen algunos trabajos, en vertebrados, que sugieren la acción de un inmuno-sacárido que actúa de forma directa en el sistema inmune innato, sin la necesidad de los probióticos (Kocher, 2004). Sin embargo, los prebióticos no son necesariamente inmuno-estimulantes y vice-versa. La actividad inmuno-moduladora de los prebióticos es mediada por las interacciones con los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) de las células, los cuales son expresados en macrófagos que ligan a

receptores de transducción de señal como NF- κ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) que estimulan la respuesta inmune (Song *et al.* 2014). Este sacárido también puede interactuar con PRRs en la forma de microorganismo asociados patrones moleculares (mAmps), tales como proteína glucosilada o el polisacárido capsular de bacterias, desencadenar una respuesta inmune (Song *et al.* 2014). No obstante, en crustáceos, que carecen de sistema inmune adaptativo, todavía no está bien definido como los prebióticos pueden actuar en la modulación del sistema inmunológico. De esta forma, el prebiótico puede actuar de dos maneras: a través de la estimulación directa del sistema inmune innato, o a través del aumento del crecimiento de la flora microbiana del tracto intestinal (Song *et al.* 2014).

Los prebióticos son encontrados en azúcares absorbibles o no, fibras, péptidos, proteínas, alcoholes de azúcares y oligosacáridos (Barata, 2012). Los prebióticos más estudiados y utilizados en la acuicultura son los oligosacáridos como el fructooligosacárido (FOS), glucooligosacárido (GOS), mananoligosacárido (MOS) y los polisacáridos, como la inulina y las β -glucanos (Song *et al.* 2014).

Existen algunos estudios con prebióticos en camarón. Ramirez *et al.* (2013) evaluaron los efectos de la suplementación de 5 g kg⁻¹ de inulina administrada individualmente y en conjunto con el probiótico. En este trabajo fue observado que los efectos simbióticos de la inulina con el probiótico son capaces de cambiar la microbiota gastrointestinal, y aumentar la respuesta inmune frente al *Vibrio alginolyticus*. Sin embargo, la inulina sola no aumentó la resistencia a este patógeno y tampoco el crecimiento del camarón *L. vannamei*. Zhang *et al.* (2012) y Cuong *et al.* (2013) utilizando 4 g kg⁻¹ de mananoligosacárido (MOS) en concentrado de camarón marino *L. vannamei*, observaron una disminución en la concentración de *Vibrios* spp en la microflora intestinal, aumento en el incremento de peso semanal del camarón y mayor resistencia al estrés por amonio frente al desafío experimental con *Vibrio harveyi*, respectivamente.

3.1. Mananoproteína (MP)

Las MOS, cuando ligadas a una proteína, forman un complejo llamado de Mananoproteína (MP) (Morales-López *et al.* 2009). Por lo tanto, la MP es un prebiótico, derivado de la pared celular de la levadura (PCL) *Saccharomyces cerevisiae*. La PCL es

compuesta por tres partes: 1) el glucano (1,3- β y 1,6- β glucano), que se compone de 50 a 60% de la PCL, 2) la quitina, de 1 a 10% de la PCL e 3) la mananoproteína, de 30-40% de la PCL (Moreno *et al.* 2008).

La distribución de estos componentes está organizada en dos capas principales, la externa compuesta de mananoproteínas y cumple la función de reconocimiento, interacciones célula/célula e interacciones con el ambiente que determinan la especificidad inmunológica de la levadura. La capa interna, compuesta por β -glucanos y quitina, es responsable por la rigidez de la pared celular y define su forma (García, 2008; Gomes, 2009), siendo su estructura interconectada por ligaciones covalentes (Barata, 2012).

Las mananoproteínas poseen funciones enzimáticas y estructurales en la levadura, y también poseen una importante acción biológica en aves y porcinos, en nivel intestinal, aumentando la respuesta inmune, estimulando el crecimiento y mejorando la conversión alimenticia (Iglesias-Hernández *et al.* 2013). Las MP son polipéptidos altamente glicosilados que forman estructuras de grande porte en el exterior de la pared celular de la levadura (Lipke & Ovalle, 1998). Muchas mananoproteínas en la levadura presentan glicanos ligados al nitrógeno con una estructura de manosa y glicosaminoglicanos (Lipke & Ovalle, 1998). Las mananoproteínas son constituidas de 50 a 200 unidades de manosa, con ligaciones glicosídicas α -1,6, α -1,2 e α -1,3. (Lipke & Ovalle, 1998)

Estudios usando las fracciones de levaduras ricas en mananos presentan efectos benéficos sobre la salud y la productividad animal (Torrecillas *et al.*, 2013; Edwards *et al.*, 2014). Los prebióticos más utilizados ricos en manano son los mananoligosacáridos. La parte manano de este prebiótico actúa en las bacterias Gram-negativas por dos mecanismos: aglutinación de las fimbrias tipo I y modulación de la respuesta inmune del huésped, siendo el primero aparentemente el más discutido en la literatura (Costa, 2014). La colonización intestinal es reconocida como punto inicial de la infección bacteriana en los enterocitos; las lectinas manose-específicas de las fimbrias tipo I de las bacterias reconocen y se ligan a las glicoproteínas en las células del huésped (ricas en manose) (Moran, 2004). De esta forma, ocurre el bloqueo competitivo de las lectinas de las fimbrias bacterianas, impidiendo la infección bacteriana de los enterocitos (Moran, 2004).

Como la mananoproteína (Actigen[®]TM) es un producto derivado del mananoligosacárido, hace que la estructura del MOS responsable por la aglutinación de

bacterias sea suministrada de forma concentrada, aumentando así la probabilidad de la unión prebiótico-bacteria y minimizando las interacciones de bacterias Gram- negativas con los enterocitos (Hooge *et al.* 2013).

3.2. Uso de mananoproteína en la alimentación animal

Estudios que evalúan el uso de mananoproteína (MP) como aditivo alimentario en la alimentación animal son escasos y, hasta el presente, no fueron encontrados estudios en la literatura que evalúen su uso en la acuicultura.

Los pocos estudios publicados fueron realizados con pollos y porcinos. Donde la inclusión de 0,4 g kg⁻¹ de MP en la dieta y su asociación al antibiótico Halquinol no resultó en la mejoría de los parámetros zootécnicos de pollos (Barata, 2012). Sin embargo, la MP tuvo un efecto protector de la integridad intestinal de los pollos (Barata, 2012). Lo mismo fue observado por Moralez-López *et al.* (2009), donde las dietas de pollo de corte fueron suplementados con 95 mg kg⁻¹ hasta 190 mg kg⁻¹, presentando solamente aumento en las velocidades intestinales del tracto digestivo.

En estudios realizados con porcinos, se observó menor prevalencia de la *Salmonella* en la carcasa pre-sacrificio en porcinos alimentados con 1,6 g kg⁻¹ en el desmame (0-35 días), 0,8 g kg⁻¹ de MP en la dieta de 36 a 50 días e 0,4 g kg⁻¹ de 51 a 100 días (Costa, 2014). Adicionalmente, hubo aumento del crecimiento e incremento de la carcasa en porcino alimentado con 0,4 g kg⁻¹ (0 a 38 días) y 0,2 g kg⁻¹ (39 a 80 días) de MP en la dieta (Edwards *et al.* 2014).

1 Ácidos orgánicos y sus sales

Como alternativa adicional al uso de antibióticos, Vásquez *et al.* (2005) propusieron el uso de ácidos orgánicos como aditivos en la alimentación de peces, demostrando que bacterias lácticas inhibieron las bacterias patógenas de la microbiota de *Scophthalmus maximus* debido a la producción de ácido láctico y ácido acético sin la producción de bacteriocinas. Estos ácidos orgánicos han recibido gran atención como sustituyentes potenciales de los antibióticos con el fin de mejorar el rendimiento y la salud animal (Lückstädts 2008).

Los ácidos orgánicos se consideran compuestos GRAS (de inglés, Generally Regarded as Safe) con uno o más grupos carboxílicos (-COOH) con capacidad antimicrobiana (Deifoirdt *et al.* 2009). Muchos de los ácidos orgánicos también están disponibles en sales de sodio, potasio y calcio, lo que les confiere ventajas como ser inodoros, menos corrosivos, más solubles en agua que los ácidos libres y de fácil manipulación durante la adición en la ración debido a su solidez y poca volatilización (Partanen & Mroz 1999).

1.1 Mecanismos de acción y efecto de las sales orgánicas en la acuicultura

1.1.1 Inhibición de bacterias patógenas

Los ácidos orgánicos y sus sales son efectivos en la inhibición de las bacterias patógenas, principalmente gram negativas, al disminuir el pH de su entorno. Estos ácidos entran en la pared celular y liberan protones en el citoplasma desequilibrando el pH de la célula. Para mantener el equilibrio, la bacteria comienza a consumir grandes cantidades de ATP para expulsar los protones de la célula. El alto gasto de ATP causa una depleción energética que termina con la muerte celular (Lückstädts 2008).

Algunos ácidos orgánicos o sus sales ya han demostrado su poder inhibitorio *in vitro* frente a diferentes especies de *Vibrio*. Silva *et al.* (2013) verificaron que el fumarato, acetato, butirato y propionato de sodio fueron capaces de inhibir *V. alginolyticus*, *V. anguillarum* y *V. harveyi*. Estudios similares también demostraron la capacidad inhibitoria de ácidos orgánicos como el ácido fórmico, acético, butírico, propiónico y valérico frente a diferentes especies de *Vibrio* patógenos en crustáceos (Mine & Boopathy 2011; Adams & Boopathy 2013).

Además de disminuir el pH intracelular, los ácidos orgánicos y sus sales son capaces de formar complejos quelantes con minerales, principalmente con el hierro, indisponibilizando micronutrientes y limitando el crecimiento de otros microorganismos (Cardoso & Nogueira 2007).

1.1.2 Mejora en la digestión de nutrientes

Estudios han comprobado que el uso de ácidos orgánicos aumenta la absorción del fósforo en animales al disminuir el pH y consecuentemente solubilizando sustancias antinutricionales presentes en la ración, como fosfato tricálcico y fitatos. Además, los ácidos orgánicos son capaces de suministrar los minerales de las dietas bajando el pH, resultando en una mayor disociación de los compuestos minerales, reduciendo la tasa de vaciamiento del estómago y formando complejos minerales quelatos fácilmente absorbidos en el intestino. De igual forma pueden ser fuentes de energía que pueden ser usadas en varias rutas metabólicas energéticas como el ciclo de Krebs (Luckstadt 2008).

En el camarón marino *L. vannamei*, sales como el butirato y el propionato de sodio ayudaron a incrementar la retención de nitrógeno, la tasa de eficiencia proteica y la digestibilidad aparente de energía y fósforo (Silva *et al.* 2013; Silva *et al.* 2014), lo cual indica que el uso de ácidos orgánicos puede ayudar a incrementar la biodisponibilidad de nutrientes, mejorando la digestibilidad y consecuentemente disminuyendo residuos en los cultivos. Asimismo, el uso de ácidos orgánicos también puede influir en enzimas como la pepsina, la cual tiene mejor actividad a pH bajos (Luckstadt 2008). Según Silva *et al.* (2015) el uso de acetato y propionato de sodio incrementó la actividad *in vitro* de la tripsina y quimiotripsina en *L. vannamei* y el uso de fumarato y succinato de sodio aumentó la digestibilidad de proteína.

1.1.3 Mejora en los índices zootécnicos

Diversos estudios han demostrado que la inclusión de ácidos o sales orgánicas en dietas mejoran diversos parámetros zootécnicos en la acuicultura tales como: parámetros zootécnicos (ganancia de peso, eficiencia alimentaria, supervivencia), parámetros inmunológicos, microbiota intestinal y resistencia frente a desafío con diferentes patógenos.

En *L. vannamei* el uso de ácidos orgánicos o sus sales aumentaron la ganancia de peso, mejoraron la supervivencia y la eficiencia alimentaria y disminuyeron concentraciones de bacterias patógenas (*Vibrio* spp.) en el intestino (Silva *et al.* 2013, Silva *et al.* 2014). En *P. monodon* ácidos orgánicos además de disminuir las concentraciones de

Vibrios spp. en el hepatopancreas e intestino, confirieron mayor resistencia a los camarones frente a la infección con *V. harveyi*, aumentando la actividad inmune y reduciendo las lesiones en el hepatopancreas (Ng *et al.* 2015; Romano *et al.* 2015). Adicionalmente, en *L. vannamei* el uso del diformiato de potasio (KDF) aumentó el crecimiento y la productividad final en el 19.5% (Kühlmann *et al.* 2011a) y al mismo tiempo disminuyó la mortalidad en camarones infectados por *V. harveyi*, sugiriendo que este ácido también tendría el mismo efecto en otras bacterias gram negativas patógenas en el cultivo de *L. vannamei* (Kühlmann *et al.* 2011b).

4. Algas pardas

4.1. Producción y aplicación económica

Las plantas acuáticas son cultivadas en cerca de 50 países, en la última década, este sector económico se expandió en torno de 8% al año, más que duplicando la producción en este período. En 2014, la producción mundial ha alcanzado cerca de 28,5 millones de toneladas, gran parte dominada por las algas pardas macroalgas, siendo el alga roja *Kappaphycus alvarezii* la especie más producida en el mundo, con producción aproximada de 11 millones de toneladas, seguida por el alga parda *Saccharina japonica*, con aproximadamente 7,7 millones de toneladas. Las algas pardas *Undaria pinnatifida* y *Sargassum fusiforme* están en el cuarto y sexto lugar entre las 10 especies más producidas en el mundo, con producción de 2,4 millones y 175 mil toneladas, respectivamente (FAO, 2016).

Este volumen producido de macroalgas fue destinado para el consumo humano, directo o de forma procesada (tradicionalmente en Japón, Corea y China), para el uso como fertilizante, biocombustible, para industria farmacéutica, cosmética, bien como para extracción de compuestos con acción gelificante (especialmente agar, carragenina y alginato) y de saborizantes para incorporar en comidas y bebidas industrializadas. Además de eso, por muchos años las macroalgas vienen siendo utilizadas para alimentación animal y en la medicina, como fuente de yodo, vermífugo y antibiótico natural. Actualmente, hay un creciente interés en dicha aplicación debido al valor nutricional y a la variedad de compuestos bioactivos de las macroalgas (FAO, 2016; Milledge *et al.* 2016). Similarmente, en la acuicultura diversos estudios han sido desarrollados evaluando las macroalgas como

ingredientes de dietas prácticas, generalmente en sustitución de la harina de pescado y/o a ingredientes de origen vegetal, o como aditivos alimentarios (en la forma íntegra y como extracto) con enfoque en los efectos funcionales sobre la fisiología y respuesta inmune de los animales (Costa *et al.* 2013; Cruz-Suárez *et al.* 2008; Niu *et al.* 2015; Schleder *et al.* in press).

4.2. Propiedades bioquímicas y nutraceuticas

Las algas pardas (Ochrophyta, Phaeophyceae) se destacan por sus diversas propiedades terapéuticas y abundancia de compuestos bioactivos, en especial los polisacáridos, fenoles y polifenoles, lípidos y los terpenoides (Balboa *et al.* 2013). Entre los polisacáridos, se destacan principalmente el fucoidan, el alginato y la laminarina. Esta última es compuesta por residuos de (1,3)- β -D-glucopiranososa, presenta un relativo bajo peso molecular y sus características estructurales varían entre las especies de algas pardas. Puede actuar como modulador del metabolismo intestinal, activador del sistema inmune, sin embargo presenta baja capacidad antioxidante. El alginato o ácido algínico es un polisacárido lineal aniónico que contiene residuos (1,4)- β -D-ácido manurónico y α -L-ácido gulurónico, comercialmente utilizado como agente gelificante (Balboa *et al.* 2013). El alginato de sodio estimula las defensas antioxidantes, la respuesta inmune y la resistencia contra infección bacteriana en camarones (Liu *et al.* 2006).

Los fucoidanos son polisacáridos sulfatados complejos encontrados en la matriz extracelular y pared celular de algas pardas. Representan del 10 al 20% de la masa seca de dichas algas y, de forma general, son compuestas por l-fucosa, grupos sulfatados y una o más porciones pequeñas con d-xilosa, d-manosa, d-galactosa, l-ramnosa, arabinosa, d-glucosa, d-ácido glicurónico y grupos acetyl. Los fucoidanos son encontrados en algas pardas y en animales equinodermos, sin embargo no son encontradas en otros grupos de algas y tampoco en plantas terrestres. Fucoidanos provenientes de algas pardas presentan mayor complejidad y heterogeneidad en su estructura y composición que las sintetizadas en equinodermos. Existe una amplia cantidad de estudios relacionados con las actividades terapéuticas de los fucoidanos en diferentes seres vivos, demostrando actividades antitumorales, antivirales, antibacterianas, anti-inflamatorias, inmuno-moduladoras, de protección contra radiación, osteoartritis, úlceras gástricas, daños oxidativos e incluso

actuando como promotor de crecimiento y en la regeneración ósea (Balboa *et al.* 2013; Milledge *et al.* 2016). En camarones, el uso de fucoidanos extraídos de diferentes especies de algas pardas han demostrado resultados significativos, incrementando la respuesta inmune, resistencia a infección con virus de la Mancha Blanca (WSSV, del inglés *White Spot Syndrome Virus*) y *Vibrio* spp., e incluso en el incremento de peso (Chen *et al.* 2016, Immanuel *et al.* 2012, Sivagnanavelmurugan *et al.* 2014).

Los terpenos abarcan un gran número de metabolitos secundarios sintetizados con unidades de isopreno, el cual es responsable por la amplia diversidad estructural y funcional de estos compuestos. Basado en la cantidad de unidades de isopreno, los terpenos son clasificados como mono-, sesqui-, di-, sester-, tri- y tetraterpenos. Los esteroides están entre los triterpenos, y diferentes tipos de esos lípidos son encontrados en las algas pardas, tales como etilenocolesterol, colesterol, ergosterol y fucosterol, siendo este último el más predominante en este grupo de algas. El fucosterol posee diversos efectos benéficos, incluyendo inhibición de la absorción del colesterol, antitumorígeno, antioxidante, antidiabético, anti-inflamatorio, antibacteriano, antimicótico y antiulcerogénico. Además, otro grupo importante de terpenos son los carotenoides, los cuales son clasificados como tetraterpenos con ocho unidades de isopreno. En las algas pardas se puede destacar la fucoxantina, un carotenoide con diversas funciones terapéuticas, tales como protección contra rayos UV, anti-obesidad, anti-inflamatoria, antiangiogénico, antidiabético, antioxidante y antitumorígeno. La fucoxantina es encontrada en altas concentraciones en las algas *Undaria pinnatifida* y *Saccharina* sp., y es el principal producto extraído de la alga *Sargassum muticum* (Balboa *et al.* 2013; Fernando, Nah & Jeon, 2016; Milledge *et al.* 2016).

Los compuestos fenólicos representan un grupo amplio y diverso de metabolitos secundarios constituidos de uno o más grupos fenoles. Con base en sus propiedades estructurales fundamentales, los compuestos fenólicos varían de simple fenoles a moléculas complejas tales como ácidos fenólicos, flavonoides, florotaninos, coumarinas, ligninas, lignanas, estilbenos y sus derivados. Estos compuestos son reconocidos por sus extensas actividades bioactivas, incluyendo antioxidante, anti-inflamatoria, antitumorígena, antimicrobiana, entre otras. Las macroalgas marinas, especialmente las algas pardas, han sido extensamente estudiadas en lo que se refiere a su rico contenido de compuestos

fenólicos. En este grupo de macroalgas, se pueden destacar los florotaninos y el floroglucinol debido a su importancia como compuestos bioactivos (Fernando, Nah & Jeon, 2016).

Schleder *et al.* (in press) observaron que camarones *Litopenaeus vannamei* alimentados con una dieta con 4% de biomasa seca de *U. pinnatifida* presentaron mayor actividad de la enzima fenoloxidasa (PO), ligada al sistema inmunológico, y menor concentración de *Vibrio* spp. en el tracto digestivo. El análisis bioquímico de la biomasa seca de esa alga parda reveló un mayor contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides en relación a otra especie de alga parda evaluada (*Sargassum filipendula*), la cual no afectó el sistema inmunológico ni tampoco la microbiología del tracto digestivo de los camarones. En este sentido, Niu *et al.* (2015) también relataron aumento de la actividad de la PO en camarones *Penaeus monodon* alimentados con dietas con de 1 a 6% de biomasa seca de *U. pinnatifida*. Adicionalmente, camarones alimentados con dieta con 4% de biomasa seca de *U. pinnatifida* presentaron mayor resistencia a la infección con WSSV, con mortalidad 26% menor en relación al grupo control (Peruch *et al.*, 2016). Y además, las algas pardas *S. filipendula* y *U. pinnatifida* presentaron efecto sinérgico sobre la resistencia de los camarones al WSSV, pues las combinaciones 0,5%:2% y 0,5%:4% (*S. filipendula*:*U. pinnatifida*, respectivamente), redujeron en torno de 50% la mortalidad de los animales (Schleder *et al.* 2017). Estos datos refuerzan el efecto inmunomodulador y antimicrobiano de las algas pardas, en especial de *U. pinnatifida*, sobre camarones marinos.

Por otra parte, las algas pardas son ricas en otros compuestos, como ácidos grasos saturados y poli-insaturados, vitaminas, especialmente vitamina C y E, y sales minerales, principalmente selenio, zinc, manganeso y cobre. Estos compuestos están asociados a diversas propiedades, en especial antioxidante e anti-inflamatoria (Balboa *et al.* 2013; Fernando, Nah & Jeon, 2016). Por último, las propiedades nutricionales y funcionales de las macroalgas pueden incrementar el rendimiento zootécnico de camarones cultivados. Cruz-Suárez *et al.* (2008) relataron que la inclusión de 4 a 10% de algas del género *Sargassum* en la dieta incrementó significativamente el crecimiento del camarón blanco del Pacífico, y Niu *et al.* (2015) observaron que la adición de 1 a 3% de biomasa seca de *U. pinnatifida* incrementó el rendimiento zootécnico de *P. monodon*, no obstante los niveles de 5 y 6% redujeron el crecimiento de los animales. Camarones *L. vannamei* alimentados con

dietas con 0,5, 2 y 4% de las algas *S. filipendula* y *U. pinnatifida* presentaron rendimiento zootécnico similar al grupo control, sin embargo, todos los niveles de *S. filipendula* y el nivel de 4% *U. pinnatifida* incrementaron la actividad de la enzima digestiva amilasa, y el nivel 0,5% de ambas algas pardas provocaron el aumento de la superficie de absorción del intestino de los camarones después de 5 semanas de cultivo (Peruch *et al.* 2016).

4.3. Resistencia al estrés térmico

La aparición de enfermedades en la acuicultura, así como en cualquier sector de producción animal, procede de la interacción entre huésped, ambiente y patógeno. De esta forma, condiciones ambientales adversas, como mala calidad del agua, exceso de manejo de los animales, alta densidad y variaciones extremas o bruscas de temperatura constituyen importantes gatillos para surtos de enfermedades, una vez que perjudican el rendimiento zootécnico y la respuesta inmunológica de los animales, tornándolos más susceptibles a los agentes patogénicos (Kautsky *et al.* 2000; Reverter *et al.* 2014).

Las variaciones de temperatura son particularmente perjudiciales para los organismos ectotérmicos, tales como los camarones, una vez que dichos animales no pueden controlar temperatura interna del organismo. En este sentido, animales ectotérmicos cuando son expuestos al frío demuestran diversos cambios fisiológicos, entre los cuales se destacan los desórdenes neuromusculares causados por la reducción del gradiente de iones y disfunción de las sinapsis; pérdida de la fluidez de la membrana y mal funcionamiento de las proteínas transmembranas; degradación y agregación de las proteínas; alteraciones en la síntesis de metabolitos y en el metabolismo energético (Hayward, Manso & Cossins, 2014).

Por consiguiente, animales de regiones templadas (animales tolerantes al frío) desarrollaron mecanismos bioquímicos y fisiológicos para superar el estrés causado por el frío. Para los insectos, fueron descritos algunos mecanismos relacionados a la capacidad de resistir a esta condición, tales como aumento de la expresión de las acuaporinas, de las enzimas de detoxificación y de las proteínas de choque térmico, las cuales son responsables, respectivamente, por facilitar el movimiento del agua entre los compartimentos celulares, reducir el estrés oxidativo e inhibir la desnaturalización proteica. Esos insectos también son capaces de incrementar la síntesis y/o almacenamiento de metabolitos, tales como aminoácidos (ej.: prolina y arginina), carbohidratos (ej.: glucosa y

trehalosa) y polalcohol (ej.: glicerol, sorbitol e inositol), los cuales actúan como potentes crioprotectores (Hayward, Manso & Cossins, 2014; Teets & Denlinger, 2013). Estas moléculas son ampliamente conocidas como osmólitos orgánicos, cuyas funciones comprenden estabilizar las biomembranas y proteínas, bien cómo prevenir el daño osmótico en las células (Yancey, 2005).

Además, insectos que presentan resistencia al frío normalmente modifican su metabolismo energético, inhibiendo la vía aeróbica y estimulando la glucólisis. Ellos también reestructuran los mecanismos de transporte de iones, que son usualmente perjudicados debido a la reducción de la fluidez de la membrana y de la síntesis de ATP (Teets & Denlinger, 2013). La reducción de la fluidez de la membrana durante el enfriamiento es particularmente perjudicial para el funcionamiento celular, pues causa la inmovilización de las proteínas transmembranas, perjudiciales en el proceso de señalización celular y transporte de nutrientes/iones. La adaptación de la homeoviscosidad de la membrana es un importante mecanismo para resistir al frío (Hayward, Manso & Cossins, 2014).

Por otro lado, animales intolerantes al frío pueden tornarse resistentes a través de la suplementación alimentaria. En peces, Harpaz, Becker y Blum (1999) observaron el aumento de por lo menos 50% en la sobrevivencia de *Pelvicachromis pulcher* alimentado con diferentes niveles de L-carnitina, después de 24 h de choque térmico. Además, el camarón (*L. vannamei*) cuando alimentado con dietas con 0,5% y 2% de la alga parda *S. filipendula* demostraron sobrevivencia significativamente mayor (97% en ambos tratamientos) en relación a los camarones alimentados con dietas sin suplementación (43%) después del choque térmico, ya la adicción de 4% de esa misma alga no afectó en la resistencia de los animales. Por otro lado, los crecientes niveles (0,5, 2 e 4%) de la alga parda *U. pinnatifida* causaron aumentos progresivos en la mortalidad de los camarones después del choque térmico, llegando a 100% en los animales alimentados con la dieta con el mayor nivel de adición (Schleder *et al.* in press).

A través de la utilización de la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF (de sus siglas en inglés *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time-Of-Flight*), fueron analizados los perfiles de proteínas y lípidos de los hemocitos de camarones alimentados con 0,5% de *S. filipendula*, antes y 15 minutos después del choque térmico, con el objetivo

de comprender los posibles mecanismos fisiológicos asociados con la resistencia observada. Se identificó que la resistencia podría estar asociada al aumento de la fluidez de la membrana y de la defensa antimicrobiana, a la reducción del estrés oxidativo y de la muerte celular causada por estrés, y a la modulación diferencial del metabolismo energético y de la regulación del ADN (Schleder *et al.* 2016). Además de eso, la combinación de ambas especies de algas pardas en la dieta (0,5%:1%, 0,5%:2% y 0,5%:4% de *S. filipendula* y *U. pinnatifida*, respectivamente) demostró un efecto sinérgico sobre la resistencia de los camarones al choque térmico, una vez que los animales alimentados con las dietas con las combinaciones de las algas presentaron una tasa de mortalidad similar a los animales del grupo control (sin adición), de esta forma la adición de 0,5% de *S. filipendula* fue capaz de evitar el efecto negativo de la adición de diferentes niveles de *U. pinnatifida*. Sin embargo, los autores sugirieron que futuros estudios deben ser realizados con mayores niveles de *S. filipendula* para evaluar si causaría reducción en la mortalidad después del choque térmico (Schleder *et al.* 2017).

En este contexto, la utilización de la biomasa seca de algas pardas como aditivo alimentario para camarones marinos presenta un enorme potencial, pues además de causar el aumento en la resistencia de los animales al estrés térmico, provocaron la modulación del sistema inmunológico de los mismos, tornándolos más resistentes a las enfermedades y a sus mecanismos desencadenadores, tales como la variación de temperatura. Este hecho presenta mayor relevancia cuando se considera la creciente expansión de la producción mundial de las macroalgas, y el bajo valor agregado para producción de la biomasa seca y, en consecuencia, para inclusión en las dietas comerciales. Además de eso, actualmente hay una tendencia creciente de utilizar productos naturales para alimentación animal, como sustituto a los antibióticos y otros fármacos, el uso de biomasa algácea un enfoque sostenible y ambientalmente amigable, pues tiene como característica ser biodegradables, manteniendo la calidad del agua dentro de los estándares de seguridad sanitaria y ambiental.

5. Conclusión

El uso de aditivos alimentarios no es una solución única contra las enfermedades en la camaronicultura marina, sin embargo pueden hacer parte de un componente de

estrategias que en conjunto pueden incrementar los índices productivos, y auxiliar a enfrentar las enfermedades.

6. Referencias

- Abbass, A., Sharifuzzaman, S. M. and Austin, B. (2010) 'Cellular components of probiotics control *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)', *J Fish Dis*, 33(1), pp. 31-7.
- Adams, D. and Boopathy, R. (2013) 'Use of formic acid to control vibriosis in shrimp aquaculture', *Biología*, 68(6), pp. 1017-1021.
- Akhter, N., Wu, B., Memon, A. M. and Mohsin, M. (2015) 'Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review', *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), pp. 733-741.
- Balboa EM, Conde E, Moure A, Falqué E & Domínguez H (2013) *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*, **138**: 1764-1785.
- Balcázar, J. L., Rojas-Luna, T. and Cunningham, D. P. (2007a) 'Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*', *J Invertebr Pathol*, 96(2), pp. 147-50.
- Balcázar, J. L., Vendrell, D., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Girones, O. and Muzquiz, J. L. (2007b) '*In vitro* competitive adhesion and production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria against fish pathogens', *Vet Microbiol*, 122(3-4), pp. 373-80.
- Barata ZRP (2012) Avaliação do uso de mananoproteínas de parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em rações para frango de corte criados em clima quente e úmido. Master, Universidade Federal Rural da Amazônia.
- Barraco, M.A.; Perazzolo M L.M.; Rosa, R.D. (2008) Inmunología de crustáceos, con énfasis en camarones. In: MORALES V. Patología e inmunología del camarón blanco *Pennaeus vannamei*. Panamá: CYTED.
- Bolívar Ramírez, N., Seiffert, W. Q., Vieira, F. d. N., Mourinho, J. L. P., Jesus, G. F. A., Ferreira, G. S. and Andreatta, E. R. (2013) 'Dieta suplementada com prebiótico, probiótico e simbiótico no cultivo de camarões marinhos', *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48, pp. 913-919.
- Cardoso & Nogueira 2007 CARDOSO, E.; NOGUEIRA, M. A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. *Microbiota do solo e qualidade ambiental*, p. 79, 2007.
- Carr, F. J., Chill, D. and Maida, N. (2002a) 'The lactic acid bacteria: a literature survey', *Crit Rev Microbiol*, 28(4), pp. 281-370.
- Chen YY, Kitikiew S, Yeh ST & Chen JC (2016). White shrimp *Litopenaeus vannamei* that have received fucoidan exhibit a defense against *Vibrio alginolyticus* and WSSV despite their recovery of immune parameters to background levels. *Fish and Shellfish Immunology*, **59**, 414-426.
- Chythanya, R., Karunasagar, I. and Karunasagar, I. (2002) 'Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by a marine *Pseudomonas* I-2 strain', *Aquaculture*, 208(1), pp. 1-10.
- Costa EDF (2014) *Validação de estratégias a campo para o controle de Salmonella sp. na cadeia de produção de suínos*. Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- Costa MM, Oliveira STL, Balen RE, Bueno Junior G, Baldan LT, Silva LCR & Santos LD (2013) Brown seaweed meal to Nile tilapia fingerlings. *Archivos de Zootecnia*, **62**:101-109.
- Cruz-Suárez LE, Tapia-Salazar M, Nieto-López MG & Ricque-Merie D (2008) A review of the effects of macroalgae in shrimp feeds and in co-culture. In: Cruz-Suárez LE, Marie DR, Tapia-Salazar M, Nieto-López MG, Cavazos DAV, Lazo JP (eds) *Avances en Nutrición Acuicola IX*. UANL, Monterrey, pp 304-333.
- Cuong DB, Dung VK, Hien NTT & Thu DT (2013) Prebiotic Evaluation of Copra-Derived Mannooligosaccharides in White-Leg Shrimps. *J Aquac Res Development*, **4**: 1 - 5.
- Cutting, S. M. (2011) 'Bacillus probiotics', *Food Microbiology*, **28**(2), pp. 214-220.
- Defoirdt, T., Sorgeloos, P. and Bossier, P. (2011) 'Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture', *Curr Opin Microbiol*, **14**(3), pp. 251-8.
- Edwards MV, Edwards AC, Millard P & Kocher A (2014) Mannose rich fraction of *Saccharomyces cerevisiae* promotes growth and enhances carcass yield in commercially housed grower–finisher pigs. *Animal Feed Science and Technology*, **197**: 227-232.
- FAO (2016) *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to Food Security and Nutrition for all*. Roma.
- FAO / WHO (2001) Report on Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria.
- Fernando IPS, Nah JW & Jeon YJ (2016) Potential anti-inflammatory natural products from marine algae. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **48**: 22–30.
- Ferreira, G. S., Bolívar, N. C., Pereira, S. A., Guertler, C., Vieira, F. d. N., Mourinho, J. L. P. and Seiffert, W. Q. (2015) 'Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*', *Aquaculture*, **448**, pp. 273-279.
- Fisheries Global Information System (FAO-FIGIS) - Web site. *Fisheries Global Information System (FIGIS). FI Institutional Websites*. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Roma. Updated. [citado 20 July 2017]. <http://www.fao.org/figis/servlet/TabSelector>
- Fuller, R. (1992) 'History and development of probiotics', in Fuller, R. (ed.) *Probiotics: The scientific basis*. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 1-8.
- Garcia F (2008) *Suplementação alimentar com B-glucano e mananoligossacarídeo para tilápias do Nilo em tanques-rede* Doctorate, Universidade estadual paulista “Julio de Mesquita Filho”.
- Gatesoupe, F. J. (1999) 'The use of probiotics in aquaculture', *Aquaculture*, **180**(1), pp. 147-165.
- Gomes MDOS (2008) *Efeito da adição de parede celular de levedura sobre a digestibilidade, microbiota, ácidos graxos de cadeia curta e aminas fecais e parâmetros hematológicos e imunológicos de cães* Master, Universidade estadual paulista “Julio de Mesquita Filho”.
- Gram, L., Melchiorson, J., Spanggaard, B., Huber, I. and Nielsen, T. F. (1999) 'Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a Possible Probiotic Treatment of Fish', *Applied and Environmental Microbiology*, **65**(3), pp. 969-973.

- Gunasekara, R. A. Y. S. A., Rekecki, A., Baruah, K., Bossier, P. and Van den Broeck, W. (2010) 'Evaluation of probiotic effect of *Aeromonas hydrophila* on the development of the digestive tract of germ-free *Artemia franciscana* nauplii', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 393(1), pp. 78-82.
- Harpaz S, Becker K & Blum R (1999) The effect of dietary L-carnitine supplementation on cold tolerance and growth of the ornamental cichlid fish *Pelvicachromis pulcher* - preliminary results. *Journal of Thermal Biology*. **24**: 57-62.
- Hayward, SAL, Manso B & Cossins AR (2014) Molecular basis of chill resistance adaptations in poikilothermic animals. *Journal of Experimental Biology*, **217**: 6-15.
- Hooge DM, Kiers A & Connolly A (2013) Meta-Analysis Summary of Broiler Chicken Trials with Dietary Actigen™ (2009-2012). *International Journal of Poultry Science*, **12**: 1 - 8.
- Iglesias-Hernández DR, Rodríguez-Silva R, Pérez-Bueno T, Sánchez-Miranda L, Pérez-Hernández Z (2013) "Rendimiento de manano en la corriente secundaria de obtención de b-1,3-glucano". *Revista Cubana de Química*, **XXV** (3): 307-310.
- Immanuel G, Sivagnanavelmurugan M, Marudhupandi T, Radhakrishnan S & Palavesama A (2012) The effect of fucoidan from brown seaweed *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). *Fish Shellfish Immunol*, **32**:551-564.
- Kautsky N, Rönnbäck P, Tedengren M & Troell M (2000) Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture*, 191: 145-161.
- Kesarcodi-Watson, A., Miner, P., Nicolas, J.-L. and Robert, R. (2012) 'Protective effect of four potential probiotics against pathogen-challenge of the larvae of three bivalves: Pacific oyster (*Crassostrea gigas*), flat oyster (*Ostrea edulis*) and scallop (*Pecten maximus*)', *Aquaculture*, 344, pp. 29-34.
- Kocher A (2004) The potential for immunosachairides to maximise growth performance a review of six publisher meta-alalysis on Bio-mos. In: Tucker, L. & Tailor-Pickard, J. (eds.) *Interfacing Immunity, Gut Health and Performance*. Nottingham Nottingham University press.
- Kühlmann *et al.* 2011^a KÜHLMANN, K. J.; JINTASATAPORN, O.; LÜCKSTÄDT, C. Effect of dietary potassium diformate (KDF) on survival of juvenile white-leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, challenged with *Vibrio harveyi* under controlled conditions. Book of Abstracts, VIII Meeting of the German Ichthyological Association, p.41. 2011a.
- Kühlmann *et al.* 2011^b KÜHLMANN, K. J.; JINTASATAPORN, O.; LÜCKSTÄDT, C. Dietary potassium-diformate (KDF) improves growth performance of white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei* under controlled conditions. *International Aquafeed*, p. 19-22, 2011b.
- Lipke PN & Ovalle R (1998) Cell Wall Architecture in Yeast: New Structure and New Challenges. *Journal of Bacteriology*, **180**: 3735-3740.
- Liu CH, Yeh SP, Kuo CM, Cheng W & Chou CH (2006) The effect of sodium alginate on the immune response of tiger shrimp via dietary administration: Activity and gene transcription. *Fish and Shellfish Immunology*, **21**:442-452.

- Luckstadt 2008 Luckstadt, C (2008) The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources 3, 1-8.
- Milledge JJ, Nielsen BV, Bailey D (2016) High-value products from macroalgae: the potential uses of the invasive brown seaweed, *Sargassum muticum*. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **15**:67–88.
- Mine, S. and Boopathy, R. (2011) 'Effect of organic acids on shrimp pathogen, *Vibrio harveyi*', *Curr Microbiol*, 63(1), pp. 1-7.
- Morales-Lopez R, Auclair E, Garcia F, Esteve-Garcia E & Brufau J (2009) Use of yeast cell walls; beta-1, 3/1, 6-glucans; and mannoproteins in broiler chicken diets. *Poult Sci*, **88**: 601-7.
- Moran CA (2004) Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan. In: LYONS, T. P. & JACQUES, K A (eds.) *Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium: re-imagining the feed industry*. Stamford: Alltech UK.
- Moreno I, Tutrone N, Sentandreu R & Valentín E (2008). *Saccharomyces cerevisiae* Rds2 transcription factor involvement in cell wall composition and architecture. *International Microbiology*, **11**: 63.
- Ng, W.-K., Koh, C.-B., Teoh, C.-Y. and Romano, N. (2015) 'Farm-raised tiger shrimp, *Penaeus monodon*, fed commercial feeds with added organic acids showed enhanced nutrient utilization, immune response and resistance to *Vibrio harveyi* challenge', *Aquaculture*, 449, pp. 69-77.
- Niu J, Chen X, Lu X, Jiang SG, Lin HZ, Liu YJ, Huang Z, Wang J, Wang Y & Tian LX (2015) Effects of different levels of dietary wakame (*Undaria pinnatifida*) on growth, immunity and intestinal structure of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, **435**:78–85.
- Ochoa-Solano, J. and Olmos-Soto, J. (2006) 'The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds', *Food Microbiology*, 23(6), pp. 519-525.
- O'sullivan L, Murphy B, Mcloughlin P, Duggan P, Lawlor PG, Hughes H & Gardiner GE (2010) Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Mar Drugs*, **8**: 2038-64.
- Pai, S. S., Anas, A., Jayaprakash, N. S., Priyaja, P., Sreelakshmi, B., Preetha, R., Philip, R., Mohandas, A. and Singh, I. S. B. (2010) '*Penaeus monodon* larvae can be protected from *Vibrio harveyi* infection by pre-emptive treatment of a rearing system with antagonistic or non-antagonistic bacterial probiotics', *Aquaculture Research*, 41(6), pp. 847-860.
- Partanen, K. H. and Mroz, Z. (1999) 'Organic acids for performance enhancement in pig diets', *Nutr Res Rev*, 12(1), pp. 117-45.
- Pattukumar, V., Kanmani, P., Satish Kumar, R., Yuvaraj, N., Paari, A. and Arul, V. (2014) 'Enhancement of innate immune system, survival and yield in *Penaeus monodon* reared in ponds using *Streptococcus phocae* PI80', *Aquaculture Nutrition*, 20(5), pp. 505-513.
- Peruch LGB, Schleder DD, Vieira FN, Silva CP, Hayashi L & Andreatta ER (2016) Utilização de macroalgas como aditivo alimentar na dieta do camarão branco do pacífico. *International Symposium of Aquaculture*. In: *FENACAM 2016*.

- Reverter M, Bontemps N, Lecchini D, Banaigs B & Sasal P (2014) Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture* **433**:50-61.
- Roberfroid M (1993) Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **33**, 103-48.
- Romano, N., Koh, C.-B. and Ng, W.-K. (2015) 'Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*', *Aquaculture*, 435, pp. 228-236.
- Sanz, Y. and De Palma, G. (2009) 'Gut microbiota and probiotics in modulation of epithelium and gut-associated lymphoid tissue function', *Int Rev Immunol*, 28(6), pp. 397-413.
- Schleder DD, Blank M, Peruch LG, Poli MA, Rosa KV, Vieira FN, Hayashi L & Andreatta ER (2017) Synergistic effect of two brown seaweeds on pacific white shrimp resistance to thermal shock and white spot disease. In: *World Aquaculture conference (WAS) 2017*.
- Schleder DD, Blank M, Peruch LGB, Poli MA, Ferreira TH, Vieira FN, Hayashi L & Andreatta ER (2016) Protein and lipid profile of hemocytes from pacific white shrimp fed with *Sargassum filipendula* and submitted to thermal shock. In: *Latin American and Caribbean International Conference (LAQUA) 2016*.
- Schleder DD, Rosa KR, Guimarães AM, Ramlov F, Maraschin M, Seiffert WQ, Vieira FN, Hayashi L & Andreatta, ER (in press) Brown seaweeds as feed additive for white-leg shrimp: effects on thermal stress resistance, midgut microbiology, and immunology. *Journal of Applied Phycology*, doi:10.1007/s10811-017-1129-z.
- Silva, B. C., Nolasco-Soria, H., Magallón-Barajas, F., Civera-Cerecedo, R., Casillas-Hernández, R. and Seiffert, W. (2016) 'Improved digestion and initial performance of whiteleg shrimp using organic salt supplements', *Aquaculture Nutrition*, 22(5), pp. 997-1005.
- Silva, B. C., Vieira, F. d. N., Mouriño, J. L. P., Bolivar, N. and Seiffert, W. Q. (2016) 'Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*', *Aquaculture Research*, 47(2), pp. 612-623.
- Silva, B. C., Vieira, F. d. N., Mouriño, J. L. P., Ferreira, G. S. and Seiffert, W. Q. (2013) 'Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition', *Aquaculture*, 384, pp. 104-110.
- Sivagnanavelmurugan M, Thaddaeus BJ, Palavesam A & Immanuel G (2014) Dietary effect of *Sargassum wightii* fucoidan to enhance growth, prophenoloxidase gene expression of *Penaeus monodon* and immune resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish Shellfish Immunol* **39**: 439-449.
- Song SK, Beck BR, Kim D, Park J, Kim J, Kim HD & Ring E (2014) Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, **40**: 40-48.
- Song, Z. F., An, J., Fu, G. H. and Yang, X. L. (2011) 'Isolation and characterization of an aerobic denitrifying *Bacillus sp.* YX-6 from shrimp culture ponds', *Aquaculture*, 319(1), pp. 188-193

- Teets NM & Denlinger DL (2013) Physiological mechanisms of seasonal and rapid cold-hardening in insects. *Physiological Entomology*, **38**: 105-116.
- Torrecillas S, Makol A, Betancor MB, Montero D, Caballero MJ, Sweetman J & Izquierdo M (2013) Enhanced intestinal epithelial barrier health status on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish & Shellfish Immunology*, **34**: 1485-1495.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohny, L. L., Pantoja, C. R., Fitzsimmons, K. and Lightner, D. V. (2013) 'Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp', *Dis Aquat Organ*, 105(1), pp. 45-55.
- Vázquez, J. A., González, M. P. and Murado, M. A. (2005) 'Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish', *Aquaculture*, 245(1), pp. 149-161.
- Velmurugan, S., Palanikumar, P., Velayuthani, P., Donio, M. B. S., Babu, M. M., Lelin, C., Sudhakar, S. and Citarasu, T. (2015) 'Bacterial white patch disease caused by *Bacillus cereus*, a new emerging disease in semi-intensive culture of *Litopenaeus vannamei*', *Aquaculture*, 444, pp. 49-54.
- Vieira, F. N., Buglione, C. C., Mourinho, J. P. L., Jatobá, A., Martins, M. L., Schleder, D. D., Andreatta, E. R., Barraco, M. A. and Vinatea, L. A. (2010) 'Effect of probiotic supplemented diet on marine shrimp survival after challenge with *Vibrio harveyi*', *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62, pp. 631-638.
- Wang, Y. G., Lee, K. L., Najjah, M., Shariff, M. and Hassan, M. D. (2000) 'A new bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus monodon* and its comparison with white spot syndrome (WSS) caused by virus', *Dis Aquat Organ*, 41(1), pp. 9-18.
- Wang, Y.-B. (2007) 'Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*', *Aquaculture*, 269(1), pp. 259-264.
- Yu, M.-C., Li, Z.-J., Lin, H.-Z., Wen, G.-L. and Ma, S. (2009) 'Effects of dietary medicinal herbs and *Bacillus* on survival, growth, body composition, and digestive enzyme activity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*', *Aquaculture International*, 17(4), pp. 377-384.
- Zhang J, Liu Y, Tian L, Yang H, Liang G & Xu D (2012) Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol*, **33**: 1027-32.
- Zhou, X.-x., Wang, Y.-b. and Li, W.-f. (2009) 'Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities', *Aquaculture*, 287(3), pp. 349-353.