

Efecto del kéfir de agua sobre la concentración de vibrios en juveniles de *Penaeus vannamei* Boone, 1931

Effect of water kefir on concentration of vibrios in juveniles of *Penaeus vannamei* Boone, 1931

Marco Geovanny Torres Troya¹ , Irán Rodríguez Delgado² , Lita Sorroza Ochoa³ 

¹Programa de Pregrado de la Carrera de Ingeniería Acuícola de la Universidad Técnica de Machala. El Oro, Machala, Ecuador.

²Grupo de Investigación Agrobiología de la Plantas (AGROPLAN). Universidad Técnica de Machala, El Oro, Machala, Ecuador.

³Grupo de Investigación en Acuicultura Sostenible (GIAS). Carrera de Acuicultura. Universidad Técnica de Machala, El Oro, Machala, Ecuador.

Correspondencia: Marco Geovanny Torres Troya, **E-mail:** totrmage160394@gmail.com

Artículo original | Original article

Palabras clave

Vibrios
Kéfir de agua
Probióticos
Camarón
Inhibición

RESUMEN | El uso de bacterias benéficas contribuye a mejorar la salud de los camarones. El kéfir es un conglomerado probiótico conformado por un grupo de microorganismos que conviven en simbiosis, principalmente bacterias ácido-lácticas y levaduras. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del kéfir de agua en la reducción de vibrios presentes en el cultivo de *Penaeus vannamei*. Se utilizó un total de ocho contenedores con 30 L de agua de mar, en los que se mantuvieron 15 juveniles con un peso promedio de $1,39 \pm 0,03$ g por tratamiento, con 6% de recambio diario del agua. Se prepararon cuatro dietas elaboradas con 75% kéfir y 25% productos extracelulares (T1); 50% kéfir y 50% productos extracelulares (T2); 50% kéfir deshidratado y 25% productos extracelulares (T3), y una dieta control solamente con alimento balanceado de 36% proteínas (TC). Se alimentó los camarones con los tratamientos antes mencionados por 10 d. Los resultados del efecto inhibitorio sobre los vibrios indicaron que los tres tratamientos fueron significativamente diferentes en relación al control. En cuanto a la salud de los camarones, los tratamientos con kéfir y sus productos extracelulares presentaron hepatopáncreas con grado 1 en contenido de lípido y mejor formación de túbulos con respecto al control (grado 3). Asimismo, en branquias los tratamientos mostraron grado 2 en formaciones necróticas mientras el control presentó grado 3. Se recomienda el uso de kéfir como un aditivo dietético para disminuir la carga bacteriana, particularmente de tipo vibrios en el cultivo de juveniles de *P. vannamei*.

Keywords

Vibrios
Water kefir
Probiotics
Shrimp
Inhibition

ABSTRACT | The use of beneficial bacteria contributes to improving shrimp health. Kefir is a probiotic conglomerate of microorganisms that coexist in symbiosis, mainly lactic acid bacteria and yeasts. The objective of the work was to evaluate the effect of water kefir in the reduction of vibrios present in the *Penaeus vannamei* culture. A total of eight plastic containers with 30 L of sea water was used, in which 15 juveniles were kept with an average weight of 1.39 ± 0.03 g per treatment, with 6% daily water change. Four diets were prepared, with 75% kefir and 25% extracellular products (T1); 50% kefir and 50% extracellular products (T2); 50% dehydrated kefir and 25% extracellular products (T3) and a control diet only with dry feed with 36% protein (TC). The shrimp were fed with the treatments above for 10 d. The inhibitory effect on vibrios indicated that the three treatments were significantly different in contrast with control. Regarding the health of shrimps, the treatments with kefir and its extracellular products presented hepatopancreas with grade 1 in lipid content and better formation of tubules concerning the control (grade 3). Likewise, in gills, the treatments showed grade 2 in necrotic appearances while the control presented grade 3. The use of kefir is recommended as a dietary additive to reduce the bacterial load, particularly the vibrios type in the culture of juvenile *P. vannamei*.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad en continuo crecimiento y evolución dentro de su ámbito de obtención de alimento de origen animal (Kibenge, 2019), esto se debe al incremento exponencial de la población

(Millard *et al.*, 2020) y demanda una producción sostenible. Dentro del campo acuícola, la camaricultura ocupa el segundo lugar de las producciones más comercializadas en las últimas décadas a nivel global (Wang *et al.*, 2020), particularmente el camarón blanco (*Penaeus vannamei*) cuyo cultivo ha avanzado tecnológicamente, pudiendo ser altamente productivo a un elevado intervalo de salinidad, lo que ha dado paso a su expansión en muchos países alrededor del mundo (Li *et al.*, 2018).

Los principales problemas que ha venido atravesando la acuicultura en los procesos de producción, es la presencia de las enfermedades presentadas por agentes biológicos (Figueredo *et al.*, 2020), particularmente por microorganismos bacterianos, los cuales han ocasionado impactos en los diferentes sistemas productivos. En el cultivo de *P. vannamei*, las bacterias patógenas con mayor impacto son las del género *Vibrio*, bacilos gran-negativos, flagelados que son un componente de la microbiota estuarina (Aguilera *et al.*, 2019). Según la documentación científica, las especies más letales en este grupo son el *Vibrio alginolyticus* (Kong *et al.*, 2018), *V. campbellii* (Thirugnanasambandam *et al.*, 2017), *V. harveyi* (Ma *et al.*, 2020; Thirugnanasambandam *et al.*, 2019), *V. parahaemolyticus* (Dong *et al.*, 2020) y *V. splendidus* (Chandrakala y Priya, 2017).

Para mejorar la producción ante la presencia de enfermedades bacterianas, es frecuente el uso de antibióticos (Zeng *et al.*, 2019); sin embargo, se ha restringido el uso de estos fármacos en el campo acuícola por el impacto generado al medio ambiente acuático y la resistencia que adquieren las bacterias patógenas (Mingmongkolchai y Panbangred, 2018; Wang *et al.*, 2019; Won *et al.*, 2020). Es por ello, que se sugiere usar microorganismos benéficos, amigables con el medio ambiente, con la finalidad de minimizar los impactos negativos (Fernandes *et al.*, 2021; Ringo *et al.*, 2020), por la cual, una eficiente alternativa preventiva para sustituir los productos químicos son los probióticos (Wang *et al.*, 2019; Hai, 2015; Fernandes *et al.*, 2021; Roomiani *et al.*, 2018).

El término probiótico ha sido establecido como microorganismos que generan beneficios altamente positivos para la salud del hospedero cuando se aplican en dosis adecuadas (Olmos *et al.*, 2020; Mathur y Sai, 2020; Yang *et al.*, 2019; Plaza-Díaz *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2018). Particularmente, modifican de manera positiva la microbiota gastrointestinal (Meybodi y Mortazavian, 2017) y el ambiente que los rodea (Toledo *et al.*, 2018). Para poder ser considerado dentro de este concepto, el microorganismo debe poseer características ineludibles, como tener la facultad de poder soportar el ambiente gastrointestinal, así como sobrevivir y poder mantener su actividad metabólica (Bergmann *et al.*, 2010). Además, los probióticos tienen que colonizar y adherirse al tracto gastrointestinal (Ringo *et al.*, 2020; Suez *et al.*, 2019), modular el sistema inmunológico (Garibay *et al.*, 2020), competir contra patógenos por espacio (Ringo *et al.*, 2020), producir compuestos benéficos y sustancias antagónicas en los mecanismos de *quorum sensing* (Toledo *et al.*, 2018; Ringo *et al.*, 2020).

Actualmente, el uso de probióticos se está aplicando en la medicina humana, agronomía y acuicultura (McKenzie *et al.*, 2018). Dentro de la acuicultura, los cultivos de camarones y peces son donde más se ha experimentado con el uso de bacterias probióticas (Zorriehzahra *et al.*, 2016), y su forma más usual de administración ha sido a través del alimento, mejorando la actividad enzimática y digestiva, o de forma directa al agua, controlando enfermedades y mejorando su calidad (Kuebutornye *et al.*, 2019).

Uno de los probióticos utilizados en el campo de la medicina humana (Egea *et al.*, 2020) y veterinaria (Metras *et al.*, 2020) es el kéfir de agua (KA), el cual es un producto compuesto de comunidades bacterianas que viven en consorcio con otros microorganismos como levaduras. Entre las bacterias que mayormente predominan son las ácido-lácticas, ácido-acéticas (Fels *et al.*, 2018) y bifidobacterias (Eckel y Vogel, 2020; Fels *et al.*, 2018; Laureys y De Vuyst, 2014). El KA tiene el potencial de producir compuestos fermentativos como dióxido de carbono (CO₂), etanol (C₂H₅OH), ácido acético (CH₃COOH), ácido láctico (C₃H₆O₃) (Xu *et al.*, 2018) y otros productos incluyendo compuestos aromáticos volátiles, a partir de metabolizar productos a base de azúcar (Fels *et al.*, 2018). La estructura de sus gránulos es irregular y posee una apariencia similar a una coliflor con una textura gelatinosa. Su diámetro oscila entre 0,3-3,5 cm, y está compuesta de 890-900 g.kg⁻¹ de agua, 30 g.kg⁻¹ de proteínas, 2 g.kg⁻¹ de lípidos, 60 g.kg⁻¹ de azúcar y 7 g.kg⁻¹ de cenizas (Bergmann *et al.*, 2010).

El presente trabajo evalúa el efecto del KA sobre la concentración de bacterias tipo vibrios en el cultivo de juveniles del camarón *Penaeus vannamei*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la Estación de Maricultura y el laboratorio de sanidad de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Técnica de Machala, El Oro, Ecuador.

Para el bioensayo con las diferentes dietas se usaron ocho contenedores plásticos con capacidad de 55 L, en el cual, se adicionó 30 L de agua de mar, para mantener 15 juveniles ($1,39 \pm 0,03$ g), con recambios de agua diarios al 6%. La salinidad se mantuvo a 22 UPS, temperatura de $28,2 \pm 0,39$ °C, oxígeno de $4,74 \pm 0,007$ mg/L, amonio de $1,17 \pm 0,032$ mg/L y pH neutro. Los organismos, previo al comienzo de los tratamientos con KA, se mantuvieron en un periodo de 6 días con alimento balanceado (36% de proteína, Aquaxel).

Para establecer los aditivos dietéticos se tomó 1 g de KA (producto natural obtenido a partir de la fermentación del jugo de caña), el cual fue colocado en 1/2 L de agua esterilizada (autoclave) al que se le adicionaron 30 mL de melaza. Cada 3 d se añadió el mismo volumen de melaza y el preparado se mantuvo a temperatura ambiente. Para la preparación de la dieta se utilizó balanceado al 36% de proteína (Aquaxel), donde se tomó 0,1 g de pegante (Naturalblind) mezclado con 5 mL de KA para 100 g de alimento. Asimismo, se determinó la prueba de hidrostabilidad en una relación de 1:20 (1 mL de productos extracelulares-PE: 20 g de balanceado).

El ensayo se estableció con tres tratamientos y el control con su respectiva réplica como se detalla a continuación: T1 (balanceado con 75% de KA y 25% de PE); T2 (balanceado con 50% de KA y 50% de PE); T3 (balanceado con 50% de kéfir deshidratado-KAD y 25% de PE) y TC (solo con alimento balanceado). Los animales fueron alimentados por un periodo de 10 d, con las dietas preparadas a base de KA. Los camarones fueron alimentados dos veces al día con el 3% de su peso corporal durante sus tres primeros días. A partir del cuarto día, se incrementó a 4%, y a 5% desde el octavo día hasta su culminación. A las 24 h de haber concluido el ensayo, se procedió a pesar y recolectar las muestras para los análisis respectivos de los camarones a partir de intestino, hepatopáncreas y branquias.

Para evaluar la condición de los animales, se realizó un análisis en fresco siguiendo la metodología Morales y Cuéllar (2008) con observaciones al microscopio óptico, determinando los daños en branquias, hepatopáncreas, contenido lipídico e intestinal, los cuales se valoraron en una escala de 0 a 4 dependiendo del grado de severidad o alteración en dichos órganos, siendo 0 el grado más leve y 4 el más alto.

La evaluación de los tratamientos se realizó mediante análisis microbiológicos utilizando la metodología descrita por Gómez *et al.* (2019). Todas las pruebas microbiológicas se realizaron en ambiente estéril (campana de flujo laminar). Se extrajo 1 g de hepatopáncreas de los camarones el cual se maceró y se realizó diluciones seriadas por triplicado de 1/10, 1/100 y 1/1000 en solución salina (1%), para cada réplica de los tratamientos. Posteriormente, se sembró un volumen de 100 μ L en placas Petri, con CHROMagarTMVibrio, selectivo para bacterias del género *Vibrio*. Las placas fueron colocadas en un incubador por un periodo de 48 h a 26 °C. Transcurrido ese tiempo, se contó las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) presentes en cada tratamiento.

Para analizar la incidencia de vibrios (UFC) en juveniles de camarones en los diferentes tratamientos, se utilizó ANOVA simple con una confiabilidad del 95%; previamente, los supuestos de normalidad de datos fueron verificados con el test de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante la independencia de errores y el test de Levene. Cuando se observaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, se aplicó la prueba de rangos y comparaciones múltiples de Duncan. El paquete estadístico para el procesamiento de los datos fue SPSS *Statistics* 24 versión de prueba Windows®.

RESULTADOS

El incremento en peso de los camarones alcanzado después de 10 d de haber alimentado a los animales fue de $0,87 \pm 0,07$ g en el T1 en comparación con el control, pero, no existió diferencias significativas entre tratamientos (Fig. 1).

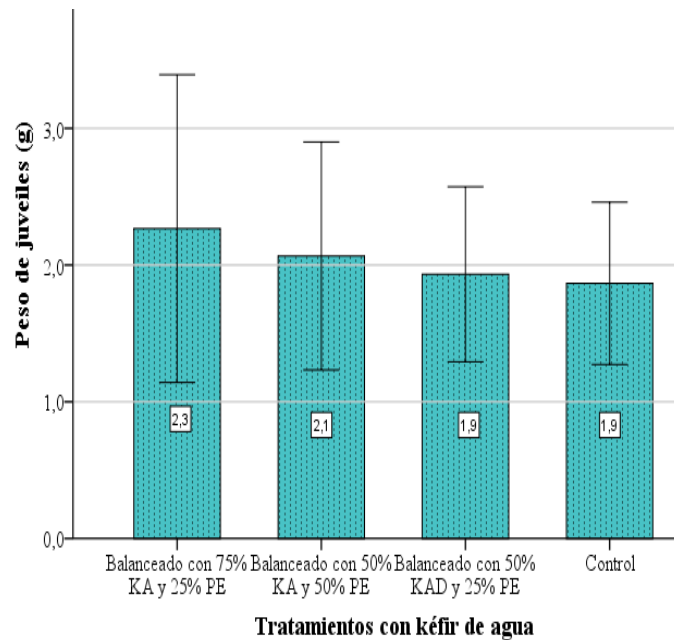


Figura 1. Peso promedio de los juveniles en los diferentes tratamientos y el control (T1- Balanceado con 75% KA y 25% PE; T2- Balanceado con 50% KA y 50% PE; T3- Balanceado con 50% KAD y 25% PE; TC- Balanceado). Las barras verticales en la gráfica indican desviación estándar en cada tratamiento.

En relación con las UFC, se observó que la dieta T3 redujo significativamente la mayor cantidad de vibrios durante la fase de experimentación. Asimismo, T1 y T2 manifiestan que hay diferencia significativa con el control. Por otra parte, los tres tratamientos presentan diferencia significativa, lo que indica, que las combinaciones sirven para reducir la carga bacteriana de vibrios después de la utilización del balanceado suministrado con KA y sus productos celulares (PE) durante 10 d (Fig. 2).

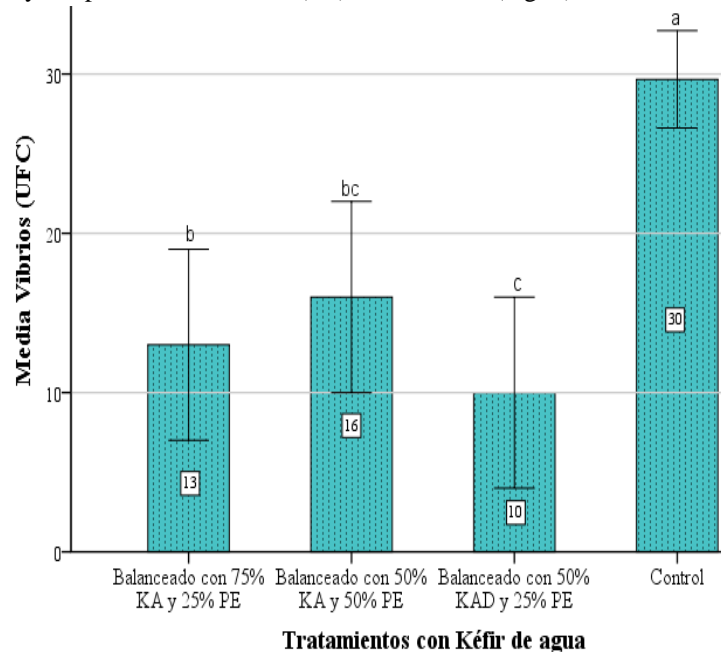


Figura 2. Reducción de UFC.g⁻¹ de hepatopáncreas alimentados con KA (T1- Balanceado con 75% KA y 25% PE; T2- Balanceado con 50% KA y 50% PE; T3- Balanceado con 50% KAD y 25% PE; TC- Balanceado). Letras diferentes indican que existen diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), las barras verticales en la gráfica indican desviación estándar en cada tratamiento.

En cuanto al estado de condici3n o salud, el análisis en fresco de las branquias de los camarones mostr3 que externamente los animales no presentaron necrosis ni sintomatología de alguna enfermedad (Fig. 3); sin embargo, internamente los animales en el tratamiento control a nivel de branquias, presentaron mayor necrosis en las lamelas (grado 3). Por su parte, con T2 y T3 con KA mostraron un nivel menor de necrosis (grado 2) y con T1 aún menor (grado 1). Todos los tratamientos con KA presentaron lamelas branquiales limpias sin síntomas aparentes de alguna posible lesi3n.

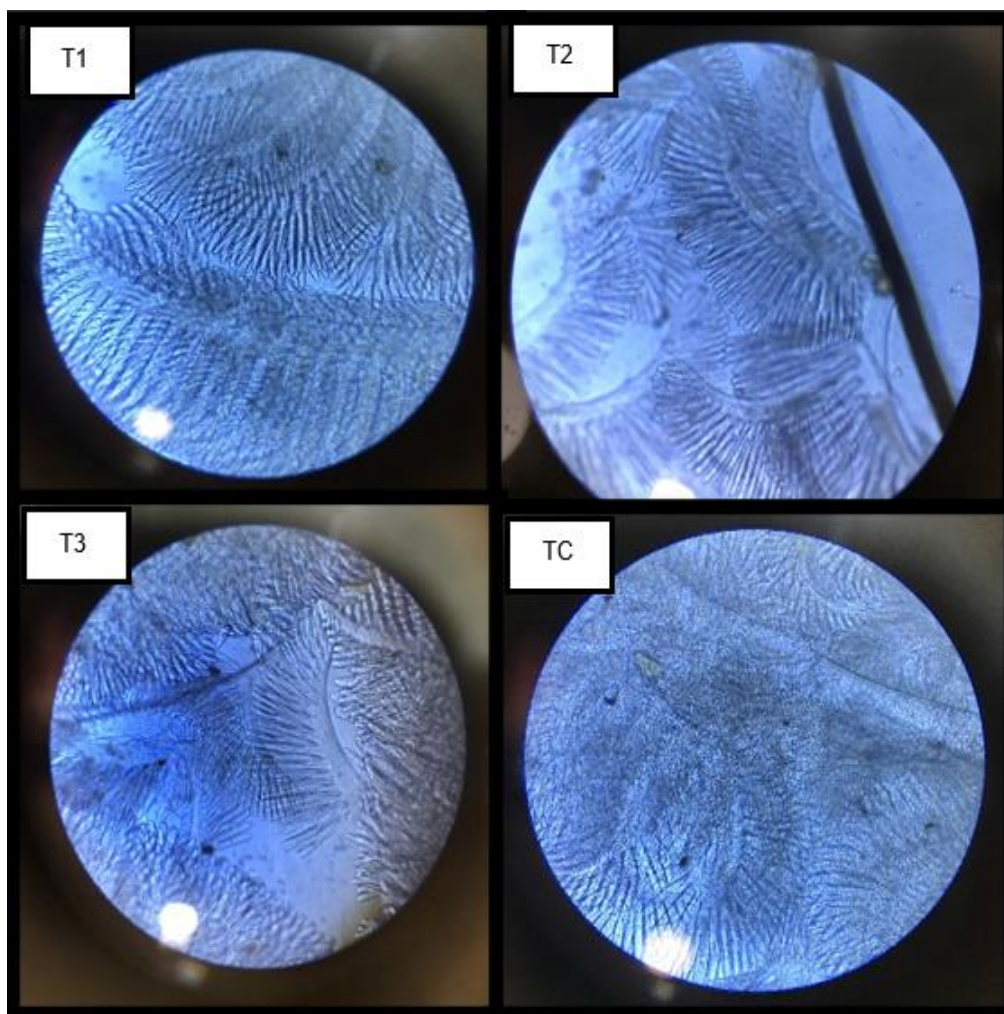


Figura 3. Análisis en fresco de lamelas branquiales de juveniles obtenidas en el ensayo respecto a cada uno de los tratamientos (T1- Balanceado con 75% KA y 25% PE- grado 0; T2- Balanceado con 50% KA y 50% PE- grado 2; T3- Balanceado con 50% KAD y 25% PE- grado 2; TC- Balanceado- grado 3).

A nivel de hepatopáncreas, el contenido de lípidos en los túbulos en los tres tratamientos fue mayor que el control (Fig. 4), sugiriendo que los camarones tenían una condici3n más saludable, con mayor asimilaci3n de los nutrientes de la dieta, los cuales son almacenados como reserva energética en los animales para después ser utilizados en sus diversos procesos fisiol3gicos y metab3licos. De igual manera, la dieta control present3 deformidad de los túbulos grado 3 y menor presencia de vacuolas lipídicas en comparaci3n con los otros tratamientos que mostraron los túbulos lisos y llenos de contenido lipídico, sugiriendo un estado de salud menor en la dieta control (Morales y Cuéllar-Angel 2008).

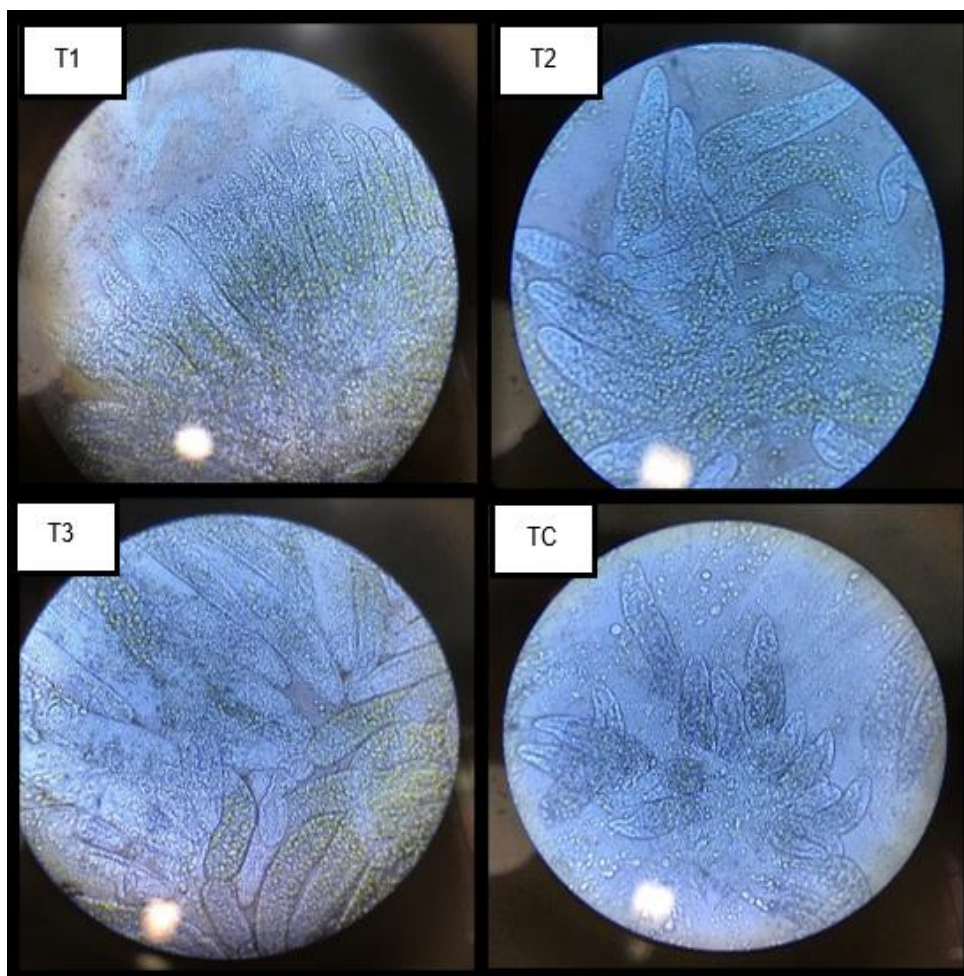


Figura 4. Análisis en fresco de hepatopáncreas de juveniles en los tratamientos y el control (T1- Balanceado con 75% KA y 25% PE- grado 1; T2- Balanceado con 50% KA y 50% PE- grado 1; T3- Balanceado con 50% KAD y 25% PE- grado 1; TC- Balanceado- grado 4).

En cuanto al contenido intestinal, no se observaron diferencias notables entre los tratamientos con respecto al control, lo cual se explica ya que todos estuvieron alimentados con alimento balanceado sin complementos naturales.

DISCUSIÓN

Actualmente, es escasa la evidencia que corrobore el uso del KA en el campo acuícola; sin embargo, Egea *et al.*, (2020) indican que dicho producto ha sido utilizado en el campo de la medicina humana con propiedades antimicrobianas, anticancerígenas, probióticas y otros, aportando múltiples beneficios para la salud, tales como, la reducción de los niveles de colesterol y la intolerancia a la lactosa, mostrando resultados efectivos contra organismos patógenos. Sin embargo, Metras *et al.*, (2020) mencionan que no obtuvieron los resultados favorables utilizado en animales (perro y gatos) a una concentración de 1×10^9 UFC/g. En cuanto a documentación científica de KA en crustáceos, aún no se ha evidenciado.

La aplicación de cepas probióticas inmersas en las dietas alimenticias ha presentado beneficios respecto al crecimiento del camarón con resultados semejantes Zheng *et al.*, (2020), donde también se pudo observar que mediante la adición de un potencial probiótico a base de *Lactobacillus plantarum* (bacteria encontrada en KA) a una concentración de 10^9 UFC/mL, mejoró notablemente el crecimiento de los camarones. A diferencia de esta investigación, donde los tratamientos alimentados con dietas a base de KA no presentaron diferencias significativas respecto al incremento en biomasa, esto podría haber sido debido al tiempo de dosificación de los tratamientos, para lo cual se requería realizar el ensayo por un tiempo más prolongado.

En relación con los múltiples beneficios de las cepas probióticas, se conoce que contribuyen en el crecimiento, digestibilidad del alimento y refuerzo del sistema inmunológico del camarón blanco del Pacífico (*P. vannamei*), como lo menciona Ringo *et al.* (2020), quienes establecen que una mezcla de cepas probióticas (*Lactobacillus* sp. y *Lactobacillus pentosus*) a una concentración de 10^7 y 5×10^8 UFC.g⁻¹, respectivamente, en el alimento mejoraron la digestibilidad enzimática. Por otra parte, Wang *et al.* (2019) sostienen que con la utilización de una dieta de cepas probióticas (*Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*) en combinación con el alimento, mejoraron significativamente el crecimiento y la tasa de supervivencia de camarones. En cuanto a la salud de los animales, se pudo evidenciar en los tres tratamientos conteniendo el KA, que la suplementación de la dieta también contribuye a mejorar el estado interno de los camarones.

Asimismo, Li *et al.* (2018) mencionan que la cepa probiótica de *Bifidobacterium* (bacterias encontradas en KA) mezclado en el alimento ha tenido resultados ampliamente positivos en la reducción de bacterias de género *Vibrio* dentro del cultivo de *P. vannamei*. Por otra parte, Roomiani *et al.* (2018) han ensayado con una cepa de *Lactobacillus bulgaricus* a una concentración de 10^9 UFC.g⁻¹ con el alimento en el cultivo de *P. vannamei* y sus resultados son similares a los que presenta esta investigación, encontrando reducción en las colonias de vibrios. Muchos investigadores indican que está ampliamente estudiado los beneficios que producen los conglomerados de bacterias probióticas, tal como lo es el KA, que es un consorcio microbiano que podría ayudar en la salud de los animales. Por otra parte, la combinación del 50% de KAD y 50% de PE (ácido láctico, ácido acético, péptidos bioactivos) mostraron una reducción significativa del total de las cepas de vibrios en el hepatopáncreas, lo que sugiere que este consorcio tendría la capacidad de proteger a los animales frente a una enfermedad de origen bacteriano.

De igual manera, dentro del cultivo *P. vannamei* se presentan estudios que respaldan el uso de mezclas de cepas probióticas en conjunto con levaduras (*Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae*) aplicadas en alimentos, las cuales han presentado resultados sobresalientes en cuanto a la reducción de vibrios (*V. parahaemolyticus*). Asimismo, mostraron efectos preventivos ante la presencia de enfermedades como la hepatopancreatitis necrotizante o Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND), tal como lo menciona Pooljun *et al.* (2020). El uso de consorcios bacterianos a partir de KA aplicado en camarón podría tener impacto positivo a nivel inmunológico donde los tratamientos de alimento con KA presentaron una reducción de UFC a diferencia del control que presentó niveles significativamente más elevados. Estudios de respuestas inmunológicas del camarón alimentados con Kéfir y no, son necesarios para dilucidar la hipótesis antes señalada.

Los resultados obtenidos en esta investigación sustentan los resultados de Rosales (2012), quien indica que después de haber administrado un consorcio microbiano de cepas probióticas (*Pediococcus* sp. y *Bacillus* sp.) y levaduras (*Pichia* sp. y *Dekkera* sp.) observó en las branquias del camarón un bajo número de lamelas con melanosis, a diferencia del control que presentó mayor cantidad de necrosis en este tejido. Por su parte, Kuebutornye *et al.*, (2019) mencionan que el uso de probióticos, específicamente especies del género *Bacillus*, presentan un efecto directo sobre el control de patógenos mediante la producción de antibióticos, optimización y digestibilidad del alimento, así como mejoramiento de la calidad del agua y fondo. Por otra parte, las cepas probióticas contenidas en el KA tienen la capacidad de producir ácidos orgánicos, los cuales podrían potencializar la digestibilidad del alimento. Sin embargo, no se ha comprobado aún a nivel exógeno o aplicado directamente al agua para medir su efecto, por lo que se sugieren investigaciones para determinar este efecto.

Nuestros resultados evidencian el efecto del kéfir de agua y sus productos extracelulares en reducir la carga bacteriana del género *Vibrio* presentes en hepatopáncreas de juveniles de *Penaeus vannamei*, y mejoran el estado de salud de los animales, lo cual sugiere su uso en la prevención y control de vibriosis; se sugiere experimentaciones a escalas mayores para determinar su proyección de implementación económica y estudios de aislamiento, identificación de bacterias del Kefir de agua, en función de determinar sus propiedades probióticas en camarones y otros organismos acuáticos.

Agradecimientos

Se agradece al proyecto financiado por la Corporación Ecuatoriana para el Desarrollo de la Investigación y la Academia (CEDIA), y los comentarios y correcciones de los revisores y editoriales del manuscrito, los cuales mejoraron sustancialmente el mismo.

REFERENCIAS

- Aguilera D., Prieto A., Rodríguez G., Escalante K., Gaxiola G. (2019). A vibriosis outbreak in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc and clear seawater. *Journal of invertebrate pathology*, 167:107-246.
- Bergmann R., Pereira M., Veiga S., Schneedorf J., Oliveira N., Fiorini J. (2010). Microbial profile of a kefir sample preparations: grains in natura and lyophilized and fermented suspension. *Food Science and Technology*, 30: 1022-1026.
- Chandrakala N., Priya S. (2017). Vibriosis in Shrimp Aquaculture A Review. *International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology (IJSRSET)*, 3: 27-33.
- Dong X., Bi D., Wang H., Zou P., Xie G., Wan X., Huang J. (2020). pirABvp -Bearing *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio campbellii* Pathogens Isolated from the Same AHPND-Affected Pond Possess Highly Similar Pathogenic Plasmids. *Frontiers in Microbiology*, 8:1859.
- Eckel V., Vogel R. (2020). Genomic and physiological insights into the lifestyle of Bifidobacterium species from water kefir. *Archives of Microbiology*, 202: 1627-1637.
- Egea M., Santos D., Oliveira Filho J., Ores J., Takeuchi K., Lemes A. (2020). A review of nondairy kefir products: their characteristics and potential human health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-17.
- Fels L., Jakob F., Vogel R., Wefers D. (2018). Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydrate Polymers*, 189: 296-303.
- Fernandes S., Kerkar S., D'Costa A., Costa M., Mishra A., Shyama S., Das K. (2021). Immuno-stimulatory effect and toxicology studies of salt pan bacteria as probiotics to combat shrimp diseases in aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 113: 69-78.
- Figueredo A., Fuentes J., Cabrera T., León J., Patti J., Silva J., Marcano N. (2020). Bioseguridad en el cultivo de camarones penaeidos: una revisión. *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura*, 2: 1-22.
- Garibay E., Martínez M., Calderón K., Gollas T., Martínez L., Vargas F., Arvayo M. (2020). La microbiota del tracto digestivo de camarones penaeidos: una perspectiva histórica y estado del arte. *Biotecnica*, 22: 5-16.
- Gómez C., Carbay Y., Sorroza L., Rivera L. (2019). Sinergia de combinaciones de extractos vegetales para el control de vibriosis en sistema productivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*). *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 2: 91-98.
- Hai N. (2015). The use of probiotics in aquaculture. *Journal of applied microbiology*, 119: 917-935.
- Kibenge F. (2019). Emerging viruses in aquaculture. *Current Opinion in Virology*, 34: 97-103.
- Kong J., Wei W., Liang Q., Qiao X., Kang H., Liu Y., Wang W. (2018). Identifying the function of LvPI3K

- during the pathogenic infection of *Litopenaeus vannamei* by *Vibrio alginolyticus*. *Fish & shellfish immunology*, 76: 355-367.
- Kuebutornye F., Abarike E., Lu Y. (2019). A review on the application of Bacillus as probiotics in aquaculture. *Fish and Shellfish Immunology*, 87: 820-828.
- Laureys D., De Vuyst L. (2014). Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Applied and environment microbiology*, 80: 2564-2572.
- Li E., Xu C., Wang X., Wang S., Zhao Q., Zhang M., Chen L. (2018). Gut microbiota and its modulation for healthy farming of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26: 381-399.
- Ma S., Kim A., Lee W., Kim S., Lee S., Yoon D., Kim S. (2020). *Vibrio harveyi* Infection Significantly Alters Amino Acid and Carbohydrate Metabolism in Whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Metabolites*, 10: 265.
- Mathur N., Sai C. (2020). Probiotics Therapy for Dermatophytosis. *Book Publisher International*.
- McKenzie V., Kueneman J., Harris R. (2018). Probiotics as a tool for disease mitigation in wildlife: insights from food production and medicine. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1429: 18-30.
- Metras B., Holle M., Parker V., Miller M., Swanson K. (2020). Assessment of commercial companion animal kefir products for label accuracy of microbial composition and quantity. *Journal of animal science*, 98: 1-26.
- Meybodi N., Mortazavian A. (2017). Probiotic supplements and food products: a comparative approach. *Biochem Pharmacol*, 6: 2167-0501.
- Millard R., Ellis R., Bateman K., Bickley L., Tyler C., Van Aerle R., Santos, E. (2020). How do abiotic environmental conditions influence shrimp susceptibility to disease? A critical analysis focussed on White Spot Disease. *Journal of invertebrate pathology*, 107369.
- Mingmongkolchai S., Panbangred W. (2018). Bacillus probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of Applied Microbiology*, 124: 1334-1346.
- Morales V., Cuéllar-Anjel J. (Eds.) (2008). Patología e inmunología de camarones peneidos. Programa Iberoamericano CYTED. Rep. de Panamá.
- Olmos J., Acosta M., Mendoza G., Pitones, V. (2020). *Bacillus subtilis*, an ideal probiotic bacterium to shrimp and fish aquaculture that increase feed digestibility, prevent microbial diseases, and avoid water pollution. *Archives of microbiology*, 202: 427-435.
- Plaza J., Ruiz F., Gil M., Gil A. (2019). Mechanisms of action of probiotics. *Advances in Nutrition*, 10: S49-S66.
- Pooljun C., Daorueang S., Weerachayanukul W., Direkbusarakom S., Jariyapong P. (2020). Enhancement of shrimp health and immunity with diets supplemented with combined probiotics: application to *Vibrio parahaemolyticus* infections. *Diseases of Aquatic Organisms*, 140: 37-46.
- Ringø E., Van Doan H., Lee S., Soltani M., Hoseinifar S., Harikrishnan R., Song S. (2020). Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *Journal of applied microbiology*, 129: 116-136.

- Roomiani L., Ahmadi S., Ghaeni M. (2018). Immune response and disease resistance in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei* induced by potential probiotic Lactobacillus. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 65: 323-329.
- Rosales M. (2012). Evaluación de un probiótico en cultivo comercial de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en Sonora, México. (Tesis de Grado). Universidad de Sonora.
- Suez J., Zmora N., Segal E., Elinav E. (2019). The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nature Medicine*, 25: 716-729.
- Thirugnanasambandam R., Inbakandan D., Abraham L., Kumar C., Sundaram S., Subashni B., Balasubramanian T. (2017). De novo assembly and annotation of the whole genomic analysis of *Vibrio campbellii* RT-1 strain, from infected shrimp: *Litopenaeus vannamei*. *Microbial pathogenesis*, 113: 372-377.
- Thirugnanasambandam R., Inbakandan D., Kumar C., Subashni B., Vasantharaja R., Abraham L., Balasubramanian T. (2019). Genomic insights of *Vibrio harveyi* RT-6 strain, from infected “Whiteleg shrimp” (*Litopenaeus vannamei*) using Illumina platform. *Molecular phylogenetics and evolution*, 130: 35-44.
- Toledo A., Castillo N., Carrillo O., Arenal A. (2018). Probióticos: una realidad en el cultivo de camarones. Artículo de revisión. *Revista de Producción Animal*, 30: 57-71.
- Wang A., Ran C., Wang Y., Zhang Z., Ding Q., Yang Y., Zhou Z. (2018). Use of probiotics in aquaculture of China—a review of the past decade. *Fish Shellfish Immunology*, 86: 734-755.
- Wang L., Su H., Hu X., Xu Y., Xu W., Huang X., Wen G. (2019). Abundance and removal of antibiotic resistance genes (ARGs) in the rearing environments of intensive shrimp aquaculture in South China. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 54: 211-218.
- Wang R., Guo Z., Tang Y., Kuang J., Duan Y., Lin H., Huang J. (2020). Effects on development and microbial community of shrimp *Litopenaeus vannamei* larvae with probiotics treatment. *AMB Express*, 10: 1-14.
- Wang Y., Hu S., Chiu C., Liu C. (2019). Multiple-strain probiotics appear to be more effective in improving the growth performance and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, than single probiotic strains. *Fish & shellfish immunology*, 84: 1050-1058.
- Won S., Hamidoghli A., Choi W., Bae J., Jang W., Lee S., Bai S. (2020). Evaluation of Potential Probiotics *Bacillus subtilis* WB60, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactococcus lactis* on Growth Performance, Immune Response, Gut Histology and Immune-Related Genes in Whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Microorganisms*, 8: 281.
- Xu D., Bechtner J., Behr J., Eisenbach L., Geißler A., Vogel R. (2018). Lifestyle of *Lactobacillus hordei* isolated from water kefir based on genomic, proteomic and physiological characterization. *International Journal of Food Microbiology*, 290: 141-149.
- Yang Q., Lü Y., Zhang M., Gong Y., Li Z., Tran N., Li S. (2019). Lactic acid bacteria, *Enterococcus faecalis* Y17 and *Pediococcus pentosaceus* G11, improved growth performance, and immunity of mud crab (*Scylla paramamosain*). *Fish & shellfish immunology*, 93: 135-143.
- Zeng S., Hou D., Liu J., Ji P., Weng S., He J., Huang Z. (2019). Antibiotic supplement in feed can perturb the intestinal microbial composition and function in Pacific white shrimp. *Applied microbiology and biotechnology*, 103: 3111-3122.

Zheng X., Duan Y., Dong H., Zhang J. (2020). The effect of *Lactobacillus plantarum* administration on the intestinal microbiota of whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 526, 735331.

Zorriehzahra M., Delshad S., Adel M., Tiwari R., Karthik K., Dhama K., Lazado C. (2016). Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Veterinary Quarterly*, 36: 228-241.

Recibido: 10-06-2021

Aprobado: 06-10-2021

Versión final: 14-10-2021

