



INIDEP

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION
Y DESARROLLO PESQUERO

INFORME DE ASESORAMIENTO Y TRANSFERENCIA

Numero

138

Páginas

19

Fecha de aprobación

27 NOV 2018

Dirección

DIRECCIÓN DE PESQUERIAS DE INVERTEBRADOS, PECES
PELAGICOS Y AMBIENTE MARINO

Programa / Gabinete

Gabinete de Biología Molecular y Microbiología

Actividad

GBMM- 21 Calidad sanitaria de los tanques de cría de reproductores de
besugo (*Pagrus pagrus*), chernia (*Polyprion americanus*) y lenguado
(*Paralichthys orbignyanus*)

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA DE LOS TANQUES DE REPRODUCTORES DE CHERNIA (*Polyprion americanus*) BESUGO (*Pagrus pagrus*) Y LENGUADO (*Paralichthys orbignyanus*) PERIODO 2015 AL 2017

En los ambientes acuáticos, los microorganismos juegan un rol fundamental en el flujo de nutrientes. En acuicultura, ciertos grupos bacterianos son utilizados como indicadores de calidad sanitaria del agua y son investigados debido a su potencial patogenicidad en organismos acuáticos. La presencia de bacterias indicadoras de contaminación como coliformes totales, termotolerantes, *Enterococcus* spp y la de *Pseudomonas aeruginosa*, podrían dar un indicio de deficiencias en el proceso de desinfección o tratamiento del agua. Las enfermedades infecciosas en peces puede ser causada por patógenos obligados y por oportunistas como *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio anguillarum*, *Edwardsiella tarda* y Mixobacterias. Con la finalidad de evaluar la calidad sanitaria del agua de los tanques de peces reproductores para la consecuente toma de medidas de manejo, desde el mes de mayo del 2015 hasta diciembre del 2017, fueron realizados muestreos mensuales de los tanque de reproductores de Besugo, Chernia y Lenguado pertenecientes a la Estación de Maricultura y Biología Experimental del INIDEP. Para ello, se efectuaron recuentos de Bacterias Aerobias Mesófilas Marinas (BAMM), bacterias de la familia *Vibrionaceae*, recuentos de *Pseudomonas* spp y *Aeromonas* spp, como así también, recuento de bacterias indicadoras de contaminación fecal y *Pseudomonas aeruginosa*. El tanque de reproductores de Chernia presentó recuentos de BMM y de *Vibrios* dentro de los límites deseados (10^2 ufc/ml de BAM y 10^1 ufc/ml de vibronaceas). El tanque de reproductores de Besugo, también los recuentos de BMM y de *Vibrios* estuvieron dentro de los límites deseados y no se detectaron potenciales bacterias patógenas (10^3 ufc/ml de BAM y 10^{1-2} ufc/ml de vibronaceas). El agua del tanque de reproductores de lenguado R2, presentó recuentos de BMM dentro de los límites, pero se observaron fluctuaciones en el recuento de *Vibrios*, en algunos casos superando el límite deseado. Se estableció la persistencia de una enterobacteria de origen no fecal identificada como *Enterobacter cloacae*. Con respecto al tanque de reproductores de lenguado R1, las densidades de BMM y vibronaceas, fueron fluctuantes, pero manteniéndose dentro de los límites deseables.

Citar Indicando la fuente. El contenido no debe ser reproducido total o parcialmente sin la expresa conformidad del INIDEP

Institución

SOLICITADO POR

Aristizabal, Eddie

Cargo

Jefe de programa

PREPARADO POR

Firma:

Nombre: GARCIA, ANALIA NOELIA

APROBADO POR

Jefe de Programa - Gabinete

Dr. MARCELO PAJARO

A/C DIRECCION

Pesquerias de Invertebrados,
Peces Pelagicos y Ambiente Marino
EJECUTOR DE AREA

Dr. OTTO C. WÖHLER

DIRECTOR

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION
Y DESARROLLO PESQUERO
INIDEP

Director del INIDEP

COPIA ELECTRÓNICA



ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA DE LOS TANQUES DE REPRODUCTORES DE CHERNIA (*Polyprion americanus*) BESUGO (*Pagrus pagrus*) Y LENGUADO (*Paralichthys orbignyanus*) PERIODO 2015 AL 2017

Anaía Noelia García

Gabinete de Biología Molecular y Microbiología
Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero - INIDEP

INTRODUCCION

En los ambientes acuáticos, los microorganismos juegan un rol fundamental en el flujo de nutrientes, al interactuar con la materia orgánica disuelta y la materia orgánica particulada (Pomeroy et al. 2007; Vadstein et al., 2012). En acuicultura, ciertos grupos bacterianos son utilizados como indicadores de calidad sanitaria del agua y son investigados debido a su potencial patogeneidad en organismos acuáticos (Beardsley et al., 2011).

Un RAS (Recirculated Aquaculture System) es un ambiente complejo en el cual los microorganismos son afectados por: tipo y régimen de alimentación, rutinas de manejo, microflora asociada a los organismos de cultivo, parámetros físicos químicos del agua, presión de selección en los biofiltros. Mantener los peces u organismos de cultivo sanos en un RAS, no solo depende de que los parámetros físicos- químicos del agua sean adecuados, sino también de un efectivo manejo de las poblaciones microbianas que colonizan el sistema (Michaud et al., 2009).

La desinfección del agua se emplea como herramienta frecuente de tratamiento contra las enfermedades. Sin embargo, a pesar de las medidas preventivas, el ingreso de microorganismos al sistema de cultivo es altamente probable (OIE, 2012). La presencia de bacterias indicadoras de contaminación como coliformes totales, termotolerantes, *Enterococcus* spp, y la de *Pseudomonas aeruginosa*, podrían dar un indicio de deficiencias en el proceso de desinfección o tratamiento del agua (Murell et.al 2013).

Dentro de las bacterias heterótrofas no patogénicas en agua de mar, los géneros *Pseudomonas* y *Vibrios* son los más abundantes. El género *Pseudomonas* comprende bacterias de gran diversidad metabólica e incluye especies formadoras de *biofilm* (Isnansetyo and Kamei, 2009).

Las enfermedades infecciosas en peces puede ser causada por patógenos obligados y por oportunistas. Los llamados patógenos obligados requieren un huésped para replicarse y sobreviven un corto tiempo fuera del pez, los patógenos oportunistas son comúnmente encontrados en los ambientes acuáticos y podrían causar enfermedad cuando el pez está bajo condiciones de estrés. Bacterias patógenas como *Aeromona hydrophila*, *Pseudomona fluorescens*, *Vibrio anguillarum*, *Edwardsiella tarda* y Mixobacterias, son consideradas oportunistas (Jofre Torroella, 1988).

Desde el mes de mayo del 2015 hasta diciembre del 2017, fueron realizados muestreos mensuales de los tanque de reproductores de Besugo (*Pagrus pagrus*), Chernia (*Polyprion americanus*) y Lenguado (*Paralichthys orbignyanus*) pertenecientes a la Estación de Maricultura y



Biología Experimental del INIDEP con la finalidad de evaluar la calidad sanitaria del agua como herramienta para tomar medidas de manejo de los cultivos de peces, en caso de ser necesario.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron un total de sesenta y nueve (69) muestras de agua, provenientes de los tanques de reproductores, se registraron datos de temperatura de los mismos. Las muestras fueron recolectadas en envases estériles de 500 ml, de manera aséptica.

Para evaluar la calidad bacteriológica de las mencionadas muestras, se realizaron recuentos de Bacterias Aerobias Mesófilas Marinas (BAMM) en agar Zobell, recuentos de bacterias de la familia *Vibrionaceae* en agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS) y recuentos de *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. en Agar *Glutamate Starch Phenol Red* (GSP). Se sembraron, por duplicado, alícuotas de 0,1 ml en los mencionados medios de cultivo aplicando el método estándar de siembra por diseminación en superficie. Se incubó a temperatura ambiente controlada ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) durante 48-72 hs. Los recuentos se efectuaron con ayuda de una lupa binocular en las placas que contenían entre 20 y 200 colonias.

Para efectuar el recuento de bacterias indicadoras de contaminación fecal y *Pseudomona aeruginosa* (microorganismo resistente a cloración), se procedió utilizando la técnica de filtro de membrana sugerida por el *Standard Method for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998). Las muestras fueron filtradas utilizando filtros de nitrocelulosa de 45 μm y se incubaron en los siguientes medios: Agar m Endo a $36 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 24 hs para el recuento de coliformes totales; Agar m FC: a $44,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$, 24 hs para el recuento de coliformes termotolerantes; Agar m Enterococos a $36 \pm 1^\circ\text{C}$, 24 hs, para el recuento de *Enterococcus* spp y Agar Cetrimide a $36 \pm 1^\circ\text{C}$, 24 hs para el recuento de *Pseudomona aeruginosa*.

En los casos de muestras con presencia de coliformes totales y/o termotolerantes se procedió a la identificación de enterobacterias y *E.coli*, por medio de pruebas bioquímicas y del método de detección rápido API 20 E.

Las colonias presuntivas de *Enterococcus* spp fueron confirmadas en medio Bilis Esculina Azida a $44,5 \pm 1^\circ\text{C}$, 2 hs.

RESULTADOS

En el tanque de reproductores de Chernia (tabla 1 A, B y C) se puede observar que las BAMM promedian las 10^2 ufc/ml, las bacterias del grupo *Vibrionaceae* en 10^1 ufc/ml y no se registraron coliformes totales, termotolerantes ni *Pseudomonas* del grupo fluorescente. Solamente en el mes de diciembre de 2015 se detectó *Aeromonas* spp y en junio del 2017 *Pseudomonas* spp, ambas en baja concentración.

En el tanque de reproductores de Besugo (tabla 2 A, B y C) se observa un promedio de 10^3 ufc / ml de BAMM y de 10^1 - 10^2 ufc/ml de *Vibrionaceae*s. No se detectaron coliformes totales, termotolerantes ni *Pseudomonas* del grupo fluorescente con una única excepción en el mes de marzo de 2016 que se registró la presencia de coliformes totales, altos valores de *Enterococcus* spp y la presencia de *Pseudomonas* identificada como *Pseudomonas fluorescens* o *putida*.

En el tanque de reproductores de Lenguado R2 (tabla 3 A, B y C) las BAMM se mantuvieron en el orden de 10^3 ufc/ml, mientras que los *Vibrios* promediaron las 10^2 ufc/ml. Se detectaron en todos los años coliformes totales cuyos recuentos no superaron las 230 ufc/100 ml, se identificó a *Enterobacter cloacae* como la bacteria coliforme persistente dentro del sistema. No se observó la presencia de coliformes termotolerantes y solamente en el mes de septiembre del 2015 se



detectó *Enterococcus* spp como contaminante de origen fecal y en diciembre del mismo año *Aeromonas* spp en baja concentración. En el mes de junio del 2017 se detecto la presencia de *Pseudomonas* spp.

El tanque de reproductores de Lenguado R1 (Tabla 4 A y B) comenzó a analizarse mensualmente a partir del año 2016. En el mencionado año, el recuento de BMM promedió unas 10^3 ufc/ml y las vibrionaceas en el orden de 10^{2-3} ufc/ml; mientras que en el año 2017 los recuentos de ambos grupos bacterianos bajaron en un orden de magnitud respectivamente. Se detectó solo en el mes de marzo de 2016 la presencia de *Aeromona hydrophila/ caviae*, consideradas potenciales patógenos oportunistas de peces, y la presencia intermitente de coliformes totales en baja concentración.

COPIA ELECTRÓNICA INIDP

**Tabla 1.A.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Chernia AÑO 2015.**

Ensayo	A 03-15 19/05/15 T°C: 14	A 07-15 22/06/15 T°C: 14	A 10-15 20/07/15 T°C: 14.1	A 24-15 25/08/15 T°C: 14.1	A 28-15 22/09/15 T°C: 14.5	A 30-15 14/10/15 T°C: 14.2	A 39-15 14/12/15 T°C: 16.8	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	3.5 x10 ²	1.8 x10 ²	4,3 x10 ²	5,7x10 ²	3,1 x10 ²	2 x10 ³	6 x10 ²	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	6 x10 ¹	2 x10 ¹	1 x10 ¹	6 x10 ¹	1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	6 x10 ¹	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp / <i>Pseudomonas</i> spp (ufc/ml)	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	1 x10 ¹ <i>Aeromona</i> spp	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/15: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias

**Tabla 1.B** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Chernia** AÑO 2016.

Ensayo	A 04-16 02/02/16 T°C: 16.6	A 10-16 08/03/16 T°C: 16	A 22-16 20/04/16 T°C: 16	A 29-16 30/05/16 T°C: 12.2	A 42-16 29/06/16 T°C: 12	A 49-16 01/08/16 T°C: 11.9	A 54-16 01/09/16 T°C: 16.8	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	1.5x10 ²	5x10 ²	1x10 ³	2.3x10 ³	3,6 x10 ²	1.2 x10 ³	9.4 x10 ²	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	4x10 ¹	6x10 ¹	2.6x10 ²	< 1 x10 ¹	5 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp / <i>Pseudomona</i> spp (ufc/ml)	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/16: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias

**Tabla 1.C** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Chernia** AÑO 2017.

Ensayo	A 02-17 21/06/17 T°C: 12.3	A 06-17 31/07/17 T°C: 12.1	A 22-16 04/09/17 T°C: 13.4	A 02-17 02/10/17 T°C: 14	A 17-17 25/10/17 T°C: 15.1	A 22-17 29/11/17 T°C: 11.9	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	9.3x10 ²	2.8x10 ³	1x10 ³	7.5x10 ²	2 x10 ²	8 x10 ²	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	2.6x10 ²	< 1 x10 ¹	2.6x10 ²	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	3 x10 ¹	10
<i>Aeromonas</i> spp / <i>Pseudomona</i> spp (ufc/ml)	1 x10 ¹ <i>Pseudomona</i> spp	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	< 1 x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/17: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias

**Tabla 2. A.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Besugo AÑO 2015.**

Ensayo	A 04-15 19/05/15 T°C: 15	A 08-15 22/06/15 T°C: 15	A 11-15 20/07/15 T°C: 15	A 25-15 25/08/15 T°C: 15.2	A 27-15 22/09/15 T°C: 16	A 29-15 14/10/15 T°C: 17	A 38-15 14/12/15 T°C: 18	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	1.2x10 ⁴	8.4x10 ²	1.4x10 ³	6.5x10 ²	7.5x10 ²	5.6x10 ²	2 x10 ³	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	1.2 x10 ²	5x10 ¹	1x10 ²	2.8x10 ²	1.1x10 ²	2x10 ¹	4 x10 ¹	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp / <i>Pseudomona</i> spp (ufc/ml)	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	6 x10 ¹	6 x10 ¹	< 1x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/15: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias

**Tabla 2. B.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Besugo. AÑO 2016**

Ensayo	A 03-16 02/02/16 T°C: 18.6	A 09-16 08/03/16 T°C: 19	A 23-16 20/04/16 T°C: 18.5	A 30-16 30/05/16 T°C: 15.2	A 41-16 21/06/16 T°C: 14.2	A 48-16 01/08/16 T°C: 19.3	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	2.3x10 ³	3.4x10 ³	2,6 x10 ³	3.4x10 ³	2,6 x10 ³	7.4 x10 ³	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	2 x10 ¹	9x10 ²	3,6x10 ²	1.3x10 ²	1.2x10 ²	8.7x10 ²	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp <i>/Pseudomona</i> spp (ufc/ml)	< 1x10 ¹	1.4 x10 ² <i>Pseudomonas</i> spp	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	6 x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	60	< 1	< 1	< 1	< 1	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	144	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	16 <i>Pseudomonas</i> <i>fluorescens /putida</i>	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/16: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias

**Tabla 2.C.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Besugo. AÑO 2017**

Ensayo	A 03-17 21/06/17 T°C: 13.6	A 07-17 31/07/17 T°C: 14.2	A 11-17 04/09/17 T°C: 14.0	A 15-17 02/10/17 T°C: 14.2	A 19-17 25/10/17 T°C: 15.3	A 23-17 29/11/17 T°C:	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	5x10 ³	1.4x10 ³	1.6 x10 ²	1.1x10 ³	1,9 x10 ³	5 x10 ³	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	7 x10 ²	1.3x10 ²	3,4x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	2 x10 ²	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp <i>/Pseudomona</i> spp (ufc/ml)	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/17: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias

**Tabla 3.A.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Lenguado (R2). AÑO 2015**

Ensayo	A 05-15 08/06/15 T°C:14	A 09-15 06/07/15 T°C: 14	A 18-15 12/08/15 T°C:14	A 26-15 15/09/15 T°C:14	A 34-15 19/10/15 T°C: 15	A 35-15 28/10/15 T°C: 16	A 36-15 17/11/15 T°C:16	A 37-15 14/12/15 T°C: 19	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	3,3x10 ³	1,4x10 ³	1,3x10 ³	1,7x10 ³	5.4x10 ³	1x10 ⁴	6.4x10 ³	2.4x10 ³	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	1,2 x10 ³	4x10 ¹	2.8x10 ²	1.4x10 ²	3.3x10 ²	1 x10 ³	6 x10 ¹	4 x10 ²	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp / <i>Pseudomonas</i> spp (ufc/ml)	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	1x10 ¹	4x10 ¹	4x10 ¹	< 1x10 ¹	4 x 10 ¹ pres <i>Aeromonas</i> spp	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	230	8	< 1	200	101	24	8	36	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	38	<1	<1	<1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/15: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias.

**Tabla 3.B.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Lenguado (R2). AÑO 2016**

Ensayo	A 02-16 02/02/16 T°C:17.5	A 14-16 09/03/16 T°C: 18.5	A 28-16 18/05/16 T°C:16.2	A 40-16 11/07/16 T°C:14.5	A 47-16 19/10/15 T°C: 15	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	1.5 x10 ³	1.7 x10 ³	3.5x10 ³	2 x10 ³	2x10 ³	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	7 x10 ¹	9 x10 ²	4x10 ²	2.7x10 ²	3x10 ²	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp / <i>Pseudomona</i> spp (ufc/ml)	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	1x10 ¹	< 1x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	56	30	50	< 1	6	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/16: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias.

**Tabla 3.C.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Lenguado (R2). AÑO 2017**

Ensayo	A 05-17 21/06/17 T°C:15.5	A 09-17 31/07/17 T°C: 14	A 13-17 04/09/17 T°C:12	A 17-17 02/10/17 T°C:16	A 21-17 25/10/17 T°C: 17	A 25-17 29/11/17 T°C: 16	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	8.6 x10 ²	1.4 x10 ³	7x10 ²	8.2 x10 ²	4 x10 ³	2x10 ³	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	6 x10 ²	3.5 x10 ²	1x10 ²	2 x10 ¹	8 x10 ²	2x10 ²	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp <i>/Pseudomonas</i> spp (ufc/ml)	4x10 ¹ pres. <i>Pseudomonas</i> spp.	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	<1	<1	< 1	< 1	<1	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/17: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias.

**Tabla 4.A.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Lenguado (R1). AÑO 2016**

Ensayo	A 01-16 02/02/16 T°C:17.5	A 13-16 09/03/16 T°C: 17.5	A 27-16 18/05/16 T°C:16.7	A 39-16 11/07/16 T°C:16	A 46-16 26/07/16 T°C: 16	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	2.2 x10 ³	1.8 x10 ³	1.4 x10 ³	7 x10 ³	1.4 x10 ⁴	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	1.8 x10 ³	5 x10 ²	1.9 x10 ²	1.9 x10 ³	3x10 ³	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp / <i>Pseudomona</i> spp (ufc/ml)	< 1x10 ¹	2 x10 ¹ <i>Aeromona</i> <i>hydrophila/caviae</i>	< 1x10 ¹	<1x10 ¹	< 1x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	22	60	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/16: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias.

**Tabla 4.B.** Se expresan los resultados de los recuentos de los diferentes grupos de microorganismos en muestras de agua del tanque de cultivo de reproductores de **Lenguado (R1). AÑO 2017**

Ensayo	A 04-17 21/06/17 T°C:15.5	A 08-17 31/07/17 T°C: 14	A 13-17 04/09/17 T°C:12	A 17-17 02/10/17 T°C:15	A 20-17 25/10/17 T°C: 16	A 24-17 29/11/17 T°C: 16	Límite deseable en acuicultura
Aerobias Mesófilas Marinas(ufc/ml)	1.6 x10 ²	1.4 x10 ³	3.7 x10 ²	8x10 ²	1.7 x10 ³	7.4 x10 ³	10 ⁵
Familia <i>Vibrionaceae</i> (ufc/ml)	4 x10 ¹	4 x10 ²	<1x10 ¹	2x10 ¹	1x10 ²	1 x10 ¹	10 ³
<i>Aeromonas</i> spp <i>/Pseudomona</i> spp (ufc/ml)	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	<1x10 ¹	< 1x10 ¹	< 1x10 ¹	
Coliformes Totales (ufc/100ml)	< 1	6	20	< 1	< 1	< 1	
Coliformes Termotol. (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1000
<i>Enterococcus</i> spp (ufc/100 ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	100
Presencia <i>E.coli</i> en 100 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
<i>P. aeruginosa</i> (ufc/100ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	

Ref: Axx/17: código muestra; fecha de toma de muestra, T°C: Temperatura del agua de tanque de cultivo, ufc: unidades formadora de colonias.



DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Debido a que en acuicultura no existen parámetros o niveles guías para determinar las densidades adecuadas de BMM, bacterias Vibrionaceae, *Aeromonas* spp, y demás bacterias indicadoras en los ambientes de cultivo, a por practicidad y a modo de control interno, se establecieron niveles deseables de microorganismos, teniendo en cuenta los siguientes conceptos: las BMM en el agua de mar de ambientes costeros, pueden fluctuar sus densidades, dependiendo la época del año entre 10^2 y 10^4 ufc/ml (Pucci, 2009), mientras que los *Vibrios* spp fluctúan entre 10^1 - 10^2 ufc/ml (Leyton, 2008). Teniendo esto en consideración, como la probable carga bacteriana del ambiente natural del los organismos acuáticos, sería deseable que la densidad de microorganismos presentes en el agua de cultivo se mantenga dentro de esos rangos; pero también hay que tener presente que la carga de BMM en un RAS está influenciada fuertemente por la carga de microorganismos que aportan los filtros biológicos, que pueden llegar a liberar al medio gran cantidad de bacterias, en el orden de 10^{5-6} , (Michaud, 2006) al igual que los *biofilms* bacterianos en las superficies de los tanques. Se han informado densidades de heterótrofas en los tanques de cría de peces de 10^5 y superiores (Leonard, 2000) por lo cual, es difícil establecer un límite a este grupo de bacterias, por lo tanto, con respecto a la densidad de BMM se podría ser más flexible. Sí es importante mantener en bajas concentraciones las poblaciones de *Vibrios*, *Aeromonas* y *Pseudomonas* del grupo fluorescente, que son consideradas bacterias oportunistas.

Cabe destacar con respecto a las enterobacterias que ciertas pruebas sugieren que hay poca acumulación de organismos entéricos y agentes patógenos en el interior o en la superficie del tejido comestible de los peces, cuando la concentración de coliformes fecales en el agua de los estanques es inferior a 10^3 por 100 ml. Hay recomendaciones con carácter provisional, como una directriz de calidad bacteriológica, de establecer hasta 10^3 coliformes termotolerantes por 100 ml y de 10^2 *Enterococcus* spp por 100 ml para estanques de peces (Suetmasu 1995; Mora, 1996). Resumiendo, las densidades ideales para los tanques de cultivo serían:

BMM $\leq 10^5$

Vibrionaceae $\leq 10^{1-2}$

Coliformes termotolerantes $\leq 1000/100$ ml

Enterococcus spp $\leq 100/100$ ml

Teniendo en consideración los límites mencionados previamente, se puede concluir que: El tanque de reproductores de Chernia presentó recuentos de BMM y de *Vibrios* dentro de los límites deseados; no se detectaron potenciales bacterias patógenas y, en función de las proporciones de los grupos bacterianos se lo puede considerar un tanque equilibrado (10^2 ufc/ml de BMM y 10^1 ufc/ml de vibrionaceas)

Con respecto al tanque de reproductores de Besugo, también los recuentos de BMM y de *Vibrios* estuvieron dentro de los límites deseados (10^3 ufc/ml de BMM y 10^{1-2} ufc/ml de vibrionaceas) y no se detectaron potenciales bacterias patógenas, si bien los recuentos son los deseados, se observó en los meses de agosto y septiembre 2015 un desequilibrio en la proporción de BMM y *Vibrios*, siendo las Vibrionaceas la proporción dominante de



bacterias en el tanque. La bibliografía sugiere que en un sistema equilibrado las bacterias Vibrionaceas se encuentran en menor número que las BMM, por lo general entre uno y dos órdenes de magnitud menos (Blanchenton, 2013). Generalmente, las poblaciones de *Vibrios* pueden incrementar su número cuando se obstruye o satura el filtro biológico, situación que da lugar a zonas anóxicas donde la flora anaerobia (por ejemplo, *Vibrios* del grupo IV de Bergey) son capaces de crecer. La diferencia en el metabolismo respiratorio podría explicar por qué las Vibrionáceas podrían convertirse en las bacterias dominantes cuando hay falta de oxígeno (Leonard, 2000).

El agua del tanque de reproductores de lenguado R2, presentó recuentos de BMM dentro de los límites, pero se observaron fluctuaciones en el recuento de *Vibrios*, en algunos casos superando el límite deseado. Solamente en el mes de junio del 2015 y junio del 2017, se detectó un desequilibrio en la proporción de BMM y *Vibrios*, siendo las Vibrionaceas la proporción dominante de bacterias. Se estableció la persistencia de una enterobacteria de origen no fecal identificada como *Enterobacter cloacae* en la mayoría de las muestras analizadas de este tanque, su densidad no superó las 230 ufc/100 ml y no supondría un riesgo para los ejemplares debido a que no es considerada un patógeno en acuicultura. Podría ser incluso, flora normal de los ejemplares.

Con respecto al tanque de reproductores de lenguado R1, durante el año 2016 las densidades de BMM y vibrionaceas, fueron fluctuantes, pero manteniéndose dentro de los límites deseables. Durante el año 2017, los recuentos de ambos grupos bacterianos fueron menores y en proporción, equilibrados.

Si bien las modificaciones de las densidades bacterianas están influenciadas, entre otros parámetros, por variaciones de la temperatura, (Brock, 1993) en este periodo de tiempo analizado, no se observó que hubiera relación entre el aumento de la carga bacteriana del agua con respecto al aumento de la temperatura del sistema, dentro del rango de 14°C - 19°C. Las variaciones mencionadas, podrían estar relacionadas a factores pertinentes al manejo de los tanques (concentración de materia orgánica disuelta, limpieza, recambio de agua, estado de los biofiltros, calidad del alimento, sistema de desinfección del agua, etc).



BIBLIOGRAFIA

APHA. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater. Part 9000. Microbiological Examination. 1998. 20 th edition.

BEARDSLEY, C., MOSS, S., MALFATTI, F. & AZAM, F., 2011. Quantitative role of shrimp fecal bacteria in organic matter fluxes in a recirculating shrimp aquaculture system. FEMS MICROBIOL ECOL. 77, 134–145.

BLANCHETON, J.P., ATTRAMADAL, K.J.K., MICHAUD L., ORBCASTELE, E. R, VADSTEINF, O. 2013. Insight into bacterial population in aquaculture systems and its implication. ASAE PUBL. 53. 30– 39

BROCK, T. & M. MADIGAN. 1993. Microbiología. 6ta Edición. Prentice Hall Hispanoamérica S. A. México.

ISNANSETYO, A. & KAMEI, Y., 2009. Bioactive substances produced by marine isolates of *Pseudomonas*. J IND MICROBIOL BIOT .36,1239–1248.

JOFRE TORROELLA, J. 1988 Aspectos generales de patología infecciosa. Patología en acuicultura .CAICYT. Madrid, España.

LEONARD, N. Populations of heterotrophic bacteria in an experimental recirculating aquaculture system. 2000. AQUACULT ENG. 22 ,109–120

LEYTON, Y. & RIQUELME, C. Vibrios en los sistemas Marinos costeros. 2008. REV BIOL MAR OCEANOLOG. 43(3): 441-456.

MICHAUD, L., LO GIUDICE, A., TROUSSELLIER, M., SMEDILE, F., BRUNI, & V., BLANCHETON, J.P., 2009. Phylogenetic characterization of the heterotrophic bacterial communities inhabiting a marine recirculating aquaculture system. J APPL MICROBIOL. 107, 1935–1946.

MICHAUD, L., BLANCHETON J.P, BRUNI & V., PIEDRAHITA R. 2006. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. AQUACULT ENG 34: 224–233

MORA, D. 1996. Criterios microbiológicos para evaluar las aguas en sus diferentes usos. Revista Costarricense de Salud Pública 5 (9): 23-33

MURRELL, J.A.L, ROJAS BADÍA, M.M., ROMEU ÁLVAREZ, B., ROJAS HERNÁNDEZ, N.M & HEYDRICH PÉREZ. M. 2013 Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. CENIC. 44, N°3

OIE. Manual Acuático. Métodos de desinfección de los establecimientos de Acuicultura, 2012. Capítulo 1.1.3: 31- 43.



POMEROY, L.R., WILLIAMS, P.J.L., AZAM, F., HOBBIE, J.E., 2007. The microbial loop. OCEANOGRAPHY 20, 28–33.

PUCCI, G.; ACUÑA, A.; LLANES, M.; TIEDEMANN, M.; PUCCI, O. Identificación de bacterias marinas cultivables de la ciudad costera de Comodoro Rivadavia, Argentina. 2009. REV BIOL MAR OCEANOG 44(1): 49-58.

SUEMATSU, G.L. 1995. Parámetros De Calidad Para El Uso De Aguas Residuales. Guías De Calidad De Efluentes Para La Protección De La Salud. CEPIS/OPS.

VADSTEIN, O., ANDERSEN, T., REINERTSEN, H.R., OLSEN, Y., 2012. Carbon nitrogen and phosphorous resource supply and utilization for coastal planktonic heterotrophic bacteria in a gradient of nutrient loading. MAR ECOL PROG SER .447, 55–75.

COPIA ELECTRÓNICA INDIPEP