



UNIVERSIDAD ESTATAL
PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA

**“EVALUACIÓN DE PROBIÓTICOS COMERCIALES EN EL
CRECIMIENTO, SUPERVIVENCIA Y ESTADO SANITARIO
DEL CAMARÓN BLANCO (*LITOPENAEUS VANNAMEI*)
CULTIVADO BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO MARINO

AUTOR:

GINA FERNANDA MAURA QUINTUÑA

TUTOR:

BLGA. MARÍA HERMINIA CORNEJO RODRÍGUEZ, Ph.D.

LA LIBERTAD - ECUADOR 2023

UNIVERSIDAD ESTATAL
PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA

**“EVALUACIÓN DE PROBIÓTICOS COMERCIALES EN EL
CRECIMIENTO, SUPERVIVENCIA Y ESTADO SANITARIO
DEL CAMARÓN BLANCO (*LITOPENAEUS VANNAMEI*)
CULTIVADO BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO MARINO

AUTOR:

GINA FERNANDA MAURA QUINTUÑA

TUTOR:

BLGA. MARÍA HERMINIA CORNEJO RODRÍGUEZ, Ph.D.

LA LIBERTAD - ECUADOR

2023

DEDICATORIA

El presente trabajo en primer lugar se lo dedico a Dios por brindarme salud y vida, además por permitirme culminar una de mis metas propuestas.

En segundo a mis padres y abuelos que son lo más importante en mi vida y que siempre estuvieron apoyándome, dándome amor y paciencia durante el transcurso de mi formación profesional, y a todas las personas que contribuyeron incondicionalmente en el desarrollo y finalización de esta tesis.

AGRECEDIMIENTO

A las autoridades y personal académico de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, por liderar el proceso de mi formación profesional y por impartir sus conocimientos, los cuales me impulsaron a dar un buen desempeño en mi carrera universitaria.

A mi tutora de tesis Blga. María Herminia Cornejo por brindarme su apoyo, colaboración y paciencia para orientarme, corregir y lograr finalizar el desarrollo de este trabajo investigativo.

Al laboratorio de larvas por darme la oportunidad de realizar el trabajo de investigación y al señor Carlos Tigero por compartir sus enseñanzas.

A mi Familia por darme siempre apoyo moral a lo largo de mi carrera, a mi hermana Katherine y Anthony Valencia por ayudarme a no darme por vencida durante este trabajo tan arduo y lleno de dificultades, y por su apoyo incondicional en cada momento.

A mis amigos que de una u otra manera contribuyeron a la finalización de este trabajo investigativo.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Blgo. Duque Marin Richard, Mgt.

DECANO

Facultad de Ciencias del Mar



Ing. Villón Moreno Jimmy, M.Sc.

DIRECTOR

Carrera de Biología



Blga. María Herminia Cornejo R, Ph.D

DOCENTE TUTOR



Blga. Dennis Tomalá Solano M.Sc.

DOCENTE DE ÁREA



Abg. María Rivera González, Mgtr.

SECRETARIA GENERAL

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los datos, ideas y resultados expuestos en esta tesis de grado, me corresponden exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma compartida con la Universidad Estatal Península de Santa Elena.



Gina Fernanda Maura Quintuña

C.I. 030288757-5

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	5
3. OBJETIVOS	7
3.1 Objetivo General	7
3.2 Objetivos específicos	7
4. HIPÓTESIS	8
5. MARCO TEORICÓ	9
5.1 Generalidades del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i>	9
5.1.1 Clasificación taxonómica de <i>Litopenaeus vannamei</i>:	9
5.1.2 Desarrollo larvario	9
5.2 Manejo del cultivo del camarón blanco	13
5.2.1 Manejo y monitoreo de la calidad del agua	14
5.2.2 Parámetros Físico – Químicos	15
5.2.2.1 Oxígeno disuelto	15
5.2.2.2 Salinidad	18
5.2.2.3 Temperatura	19
5.2.2.4 pH	20
5.2.2.5 Alcalinidad	23
5.3 Principales enfermedades Bacterianas en larvicultura del Camarón Blanco (<i>L. vannamei</i>)	24
5.3.1 El Género <i>Vibrio</i>	25
5.3.2 Vibriosis	25
5.3.2.1 Tipos de Vibriosis y su impacto sobre el cultivo del camarón blanco (<i>L. vannamei</i>)	26
5.4 Estrategias profilácticas para el control de enfermedades bacterianas	29
5.5 Probióticos	30
5.5.1 Características principales de un microorganismo probiótico	31
5.5.2 Mecanismos de acción	33
5.5.2.1 Colonización y adhesión en el tracto gastrointestinal	33
5.5.2.2 Producción de antimicrobianos y compuestos antivirales	34
5.5.2.3 Producción de compuestos benéficos	35
5.5.2.4 Inhibición de la Actividad anti-Quorum sensing (QS)	35

5.5.2.5 Estimulación del sistema inmune	36
5.5.2.6 Mejora de la calidad del agua	37
6.5.3 Uso de probióticos en el cultivo de Camarón y sus principales efectos	38
5.5.4 Modos de administración de probióticos	41
5.5.4.1 Administración en la dieta.....	43
5.5.4.2 Administración en el agua	44
5.5.4.3 Administración por microencapsulación – Bioencapsulación.....	44
5.5.5 Uso de probióticos comerciales en la producción de larvas de camarón blanco (<i>L. vannamei</i>)	45
5.5.6 Utilización del género <i>Bacillus</i> como probiótico e influencia en los indicadores productivos	48
6. MARCO METODOLÓGICO	52
6.1 Área de estudio	52
6.2 Enfoque y tipo de investigación	53
6.3 Productos experimentales empleados.....	53
6.3.1 Probiótico A:.....	53
6.3.2. Probiótico B:	54
6.4 Características de las unidades experimentales	54
6.5 Diseño experimental.....	55
6.6 Siembra y población de estudio	56
6.7 Proceso de activación de los probióticos	57
6.8 Dosificación de los probióticos	57
6.9 Parámetros físico – químicos del agua	58
6.10 Variables Productivas.....	59
6.10.1 Crecimiento.....	59
6.10.2 Tasa supervivencia (%)	60
6.10.3 Biomasa	61
6.10.4 Conversión alimenticia	61
6.11 Estado sanitario de <i>Litopenaeus vannamei</i>	62
6.11.1. Observación en fresco de <i>L. Vannamei</i>	65
6.12 Análisis estadístico	66
7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	67
7.1 Análisis de los parámetros físicos – químicos	67

7.1.1 Salinidad	67
7.1.2 pH	69
7.1.3 Oxígeno Disuelto.....	70
7.1.4 Temperatura.....	71
7.2 Desarrollo de los parámetros de crecimiento de las larvas <i>L. vannamei</i> con los probióticos comerciales aplicados.....	73
7.2.1 Crecimiento de acuerdo con cada tratamiento en larvas por gramo (PL/gr) 73	
7.2.2 Peso promedio.....	74
7.2.3 Longitud promedio.....	75
7.2.4 Uniformidad	76
7.3 Biomasa	77
7.4 Conversión alimenticia	78
7.5 Supervivencia de larvas <i>L. vannamei</i> con los tratamientos aplicados	79
7.6 Análisis de la dinámica bacteriana de las larvas <i>L. vannamei</i> durante los cuatro ciclos de cultivo.....	81
7.6.1 Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de larvas de camarón con la inclusión del probiótico A.....	81
7.6.2 Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de larvas de camarón con la inclusión del probiótico B.	88
7.7 Comparación de la dinámica de crecimiento de Vibrios en los estadios larvales del camarón <i>L. vannamei</i> con la inclusión de los probióticos.....	96
7.8 Anomalías en larvas <i>L. vannamei</i> con los tratamientos aplicados	99
8. DISCUSIÓN.....	101
9. CONCLUSIONES	106
10. RECOMENDACIONES	108
BIBLIOGRAFÍA.....	109
ANEXOS	140

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Figura 1. Sub – estadíos de Nauplio	10
Figura 2. Sub – estadíos de Zoea.	11
Figura 3. Sub – estadíos de Mysis	12
Figura 4. Postlarva	13
Figura 5. Posibles efectos del pH en el cultivo de Camarón	22
Figura 6. Características que presenta el género Bacillus para ser utilizado como probiótico en acuicultura	49
Figura 7. Geolocalización del área de estudio, comuna San Pablo provincia de Santa Elena	52
Figura 8. Activación del Probiótico B	57
Figura 9. Valores promedios de salinidad de los tratamientos y control durante el estudio A) Ciclo 1; B) Ciclo 2; C) Ciclo 3; D) Ciclo 4. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	68
Figura 10. Valores promedios de pH con los tratamientos y sus réplicas durante la investigación A) Ciclo 1; B) Ciclo 2; C) Ciclo 3; D) Ciclo 4. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	70
Figura 11. Fluctuaciones de OD registrados en los diferentes estadíos larvales de los tratamientos y control A) Ciclo 1; B) Ciclo 2; C) Ciclo 3; D) Ciclo 4. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	71
Figura 12. Valores promedios de temperatura obtenidos en los diferentes estadíos larvales con los tratamientos A) Ciclo 1; B) Ciclo 2; C) Ciclo 3; D) Ciclo 4. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey.....	73

Figura 13. Larvas por gramo (PL/g) por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	74
Figura 14. Peso promedio de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	75
Figura 15. Longitud promedio de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	76
Figura 16. Porcentaje de uniformidad de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	77
Figura 17. Biomasa final de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	78
Figura 18. Comportamiento del factor de conversión alimenticia en los tratamientos y control durante los cuatro ciclos de producción. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	79
Figura 19. Porcentaje de supervivencia de larvas <i>L. vannamei</i> con los tratamientos suministrados durante los cuatro ciclos de producción. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey	80
Figura 20. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio de Zoea del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.	82
Figura 21. Dinámica de crecimiento de las especies de <i>Vibrios</i> spp. (UFC/g) en el estadio Zoea del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.....	83

Figura 22. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio Mysis del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.	84
Figura 23. Dinámica de crecimiento de las especies de <i>Vibrios</i> spp. (UFC/g) en el estadio Mysis del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción ...	85
Figura 24. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio de postlarva del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción	86
Figura 25. Dinámica de crecimiento de las especies de <i>Vibrios</i> spp. (UFC/g) en el estadio postlarva del tratamiento 2 y control durante los cuatros ciclos de producción	88
Figura 26. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio de Zoea del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción	89
Figura 27. Dinámica de crecimiento de las especies de <i>Vibrios</i> spp. (UFC/g) en el estadio de Zoea del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción	90
Figura 28. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio de Mysis del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción	91
Figura 29. Dinámica de crecimiento de las especies de <i>Vibrios</i> spp. (UFC/g) en el estadio de Mysis del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción	93
Figura 30. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio de Postlarvas del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción	94
Figura 31. Dinámica de crecimiento de las especies de <i>Vibrios</i> spp. (UFC/g) en el estadio de postlarva del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción	95
Figura 32. Comparación de la carga bacteriana A) Colonias amarillas y B) Colonias verdes, entre los tratamientos y sus respectivas réplicas en los estadios larvales del camarón <i>L. vannamei</i> . Las letras iguales señalan que no existen diferencias	

estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey97

Figura 33. Comparación de la carga bacteriana de las especies de *Vibrios* spp. entre los tratamientos y sus respectivas réplicas en los estadios larvales del camarón. Las letras iguales señalan que no existen diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p>0,05$) y test de Tukey99

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Efectos de diferentes concentraciones de oxígeno disuelto en el cultivo de camarón blanco17

Tabla 2. Enfermedades ocasionadas por especies del género *Vibrio*28

Tabla 3. Probióticos aislados y comerciales utilizados en larvicultura del camarón blanco (*L. vannamei*) y sus principales efectos46

Tabla 4. Descripción de los tratamientos y composición de los probióticos55

Tabla 5. Ciclos de producción, réplica, densidad de siembra y población en cada tratamiento56

Tabla 6. Dosificación de los probióticos.....58

Tabla 7. Valores de severidad de UFC en larvas y Postlarvas de camarón65

GLOSARIO

Antagonismo: Interacción entre organismos que causa la pérdida de actividad de uno de ellos.

Bacteriocinas: Sustancias antimicrobianas producidas por bacterias y microorganismos que habitan en nuestro sistema de forma natural.

Biomasa: Materia total de los seres que viven en un lugar determinado, expresada en peso por unidad de área o de volumen

Factor de conversión alimenticia: Cantidad de alimento que necesita un animal para ganar un kilogramo de peso corporal.

Enzimática: Pertenece o relativo a las enzimas.

Estado Inmunológico: Red de órganos, tejidos y células interconectados que tienen la misión de protegernos ante agentes extraños.

Floculación: Agregación de partículas sólidas en una dispersión coloidal, en general por la adición de algún agente.

Fototactismo Positivo: Movimiento realizado por ciertos organismos animales acuáticos en respuesta a un estímulo luminoso.

Inmunoestimulación: Sustancia que aumenta la capacidad del sistema inmunitario de combatir las infecciones y las enfermedades.

Patógeno: origina y desarrolla una enfermedad.

Vibriosis: es una enfermedad bacteriana, causada por cepas patógenas extracelulares

SIMBOLOGÍA

F.C.A: Factor de conversión alimenticia.

g: gramo

Kg: kilogramo.

mg/L: Miligramo de oxígeno por litro.

ml: Mililitro

OD: Oxígeno Disuelto

pH: potencial de Hidrógeno

PL/g: Cantidad de Postlarva por gramo.

PP: incremento del peso promedio

UPS: Unidades prácticas de salinidad.

ABREVIATURAS

AED: actividad enzimática digestiva

AHL: Acil-homoserín-lactonas.

BAL: bacterias ácido-lácticas.

EMS: Síndrome de Mortalidad Temprana.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

GOS: Galacto-oligosacárido.

GP: ganancia de peso.

HP: Hepatopáncreas.

IHHNV: Virus de la necrosis hematopoyética.

LPS: Lipopolisacáridos.

MOS: Manano-oligosacárido.

NHP: Hepatopáncreas necrotizante.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PG: Peptidoglucanos.

QS: Quorum Sensing.

UFC: Estimación de las unidades formadoras de colonias.

VEC: velocidad específica de crecimiento.

RESUMEN

El uso de probióticos comerciales hoy en día se utilizan por casi todas las empresas dedicadas a la producción de larvas *Litopenaeus vannamei*, debido a su papel en la mejora de los parámetros productivos, mejora de la inmunidad, prevención de enfermedades y por la demanda de prácticas acuícolas respetuosas con el medio ambiente, sin embargo, por la gran variedad de estos productos se desconoce su efectividad en el cultivo, por tal motivo este trabajo de investigación tuvo por objeto evaluar el efecto de la aplicación de probióticos comerciales mediante el análisis de indicadores de crecimiento, supervivencia y estado sanitario durante el desarrollo de la fase larvaria del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), para lo cual se trabajó en tanques de producción con capacidad de 30 toneladas operativas, se aplicó tres tratamientos, Tratamiento 1 (control), Tratamiento 2 (probiótico A base de *Bacillus* spp.) y Tratamiento 3 (probiótico B con *Bacillus* spp. + prebióticos). Durante 4 ciclos de producción se registró parámetros fisicoquímicos del agua, crecimiento, biomasa, F.C.A, supervivencia y análisis microbiológicos (Zoea, Mysis y Postlarva). En los resultados obtenidos con los tratamientos salinidad vario de 32 a 33 UPS, pH de 7.6 a 8.4, OD entre 4 a 5.5 mg/L y temperatura entre 32 a 34 °C, siendo rangos óptimos para el cultivo. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de los parámetros productivos ($p>0.05$), sin embargo, se obtuvo efectos positivos con la aplicación del probiótico B, en el crecimiento, biomasa, F.C.A y supervivencia. En los análisis microbiológicos realizados, el tratamiento testigo registró con altas concentraciones de *Vibrios* spp., en comparación con el uso del probiótico A y B, evidenciándose la efectividad en la reducción de abundancia de *Vibrios* con el uso de estos productos en la dieta.

Palabras claves: parámetros productivos, probiótico, *Litopenaeus vannamei*, *Vibrios*.

ABSTRACT

The use of commercial probiotics today are used by almost all companies engaged in the production of *litopenaeus vannamei* larvae, due to their role in improving productive parameters, improving immunity, disease prevention and the demand for environmentally friendly aquaculture practices, however, the great variety of these products is unknown their effectiveness in cultivation, For this reason this research work aimed to evaluate the effect of the application of commercial probiotics through the analysis of growth indicators, survival and health status during the development of the larval phase of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), for which we worked in production tanks with capacity of 30 tons operating, was applied three treatments, Treatment 1 (control), Treatment 2 (probiotic A based on *Bacillus* spp.) and Treatment 3 (probiotic B with *Bacillus* spp. + prebiotics). During 4 production cycles were recorded physico-chemical parameters of water, growth, biomass, F.C.A, survival and microbiological analysis (Zoea, Mysis and Postlarva). In the results obtained with the treatments salinity varied from 32 to 33 ups, ph from 7.6 to 8.4, OD between 4 to 5.5 mg/L and temperature between 32 to 34 °C, being optimal ranges for cultivation. No significant differences were found between the treatments of the productive parameters ($p>0.05$), however, positive effects were obtained with the application of probiotic B on growth, biomass, F.C.A and survival. In the microbiological analysis, the control treatment showed high concentrations of *Vibrio* spp., compared to the use of probiotic A and B, demonstrating the effectiveness in reducing the abundance of Vibrios with the use of these products in the diet.

Keys words: Productive parameters, probiotic, *Litopenaeus vannamei*, Vibrios.

1. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos dos siglos se ha visto el dramático incremento en la demanda de los productos acuícolas, en parte por el crecimiento de la población mundial sumado a la sobreexplotación de diferentes pesquerías (FAO, 2006). De acuerdo con el informe de la FAO, Estado de la Acuicultura Mundial: 2006, la acuicultura es el sector de producción de alimentos de mayor desarrollo, presentando un aumento anual del 8.8 % desde 1970, como resultado en la actualidad este provee más del 50 por ciento del pescado consumido en el mundo (FAO, 2020; Avdalov, 2007). En los últimos años la camaronicultura ha presentado un crecimiento muy acelerado y una rápida expansión económica, principalmente en Asia, región pacífica y América Latina, donde su cultivo genera puestos de trabajo, alimento e ingresos a un gran número de personas (FAO, 2004 citado en Toledo et al., 2018). Las especies más cultivadas en estas áreas son *Litopenaeus vannamei* (camarón blanco del pacífico), *Litopenaeus setiferus* (camarón blanco del Atlántico) y *Litopenaeus monodon* (camarón tigre negro).

En Ecuador, desde el 2017 el cultivo de *L. vannamei* se convirtió en el principal producto de exportación no petrolero, constituyéndose hasta la actualidad como el pilar fundamental para la generación de fuentes de trabajo y proveedora de divisas para el país, con un crecimiento cada vez más intensivo (Reyes, 2018 citado en Soto, 2017). Sin embargo, a pesar de tener una tendencia de crecimiento favorable y de los avances tecnológicos en el manejo, alimentación y desarrollo del camarón, existen ciertos

obstáculos para el crecimiento de la producción de esta especie, como son la disponibilidad de materias primas, costos de alimentación, manejo de la calidad de agua y aumento de densidades, entre otros factores (Toledo et al., 2018; Stentiford et al., 2012). El principal problema que ha tenido que enfrentar varios países en las diferentes condiciones de cultivo, es la presencia e incremento de enfermedades infecciosas ocasionadas por patógenos de origen viral o bacteriano, asociado con el aumento en las densidades, la cual provoca pérdidas económicas y baja productividad durante el cultivo (García, 2019; Villamil & Martínez-Silva, 2009).

Para sobrellevar este problema, en el pasado la industria camaronera recurrió a la aplicación de antibióticos durante el ciclo biológico del camarón, para controlar el riesgo de infecciones por bacterias, especialmente enfermedades causadas por *Vibrio*. Sin embargo, por el uso indiscriminado de estos productos, surgieron poblaciones bacterias resistentes a distintos antimicrobianos además de la presencia de residuos en sus tejidos y en el ambiente (Lightner & Redman, 1998; Ma et al., 2006; Liu et al., 2017). Esta situación condujo al establecimiento de prohibiciones del empleo de antibióticos y a una menor aceptación por los consumidores (Gothwal & Shashidhar, 2015).

La existencia de nuevas regulaciones para la exportación camaronera y el creciente interés por producciones sostenibles estimuló la búsqueda de nuevas herramientas amigables para el control de enfermedades y mejora de la calidad del medio acuático,

como son el desarrollo de vacunas, el uso de inmunoestimulantes, potenciadores inmunológicos y probióticos (Villamil & Martínez-Silva, 2009; Shen et al., 2010). El uso de probióticos como una herramienta biotecnológica en el cultivo de camarón está aumentando cada vez más con la demanda de prácticas acuícolas respetuosas con el medio ambiente, las especies que más se han utilizado con éxito como probióticos incluyen *Bacillus*, bacterias ácido – lácticas, levaduras, *Pseudomonas* y *Vibrio* (Alavandi et al., 2004; Balcázar, 2006; Shen et al., 2010); además, su papel en la estimulación del crecimiento, mejora de los parámetros productivos, mejora de la inmunidad y la resistencia a las enfermedades se encuentran bien documentados (Campa-Córdova et al., 2020; Toro et al, 2021; Golder et al., 2022; Najmi et al., 2018).

Esta gran variedad de microorganismos vivos puede ser aplicados en la dieta o en el medio; esto va a depender donde se requiera su protección, teniendo un mejor sustento científico aquel que demuestra que la mejor forma de usar estos probióticos es en el alimento. No obstante, hay que considerar que este tipo de administración expondrá a estos microorganismos vivos a condiciones físicas y químicas extremas que podrían afectar su viabilidad y disminuir su efecto en el hospedero (Gatesoupe 1999; Nimrat et al., 2011, Senok et al., 2005).

En la Provincia de Santa Elena existen alrededor de 200 laboratorios dedicados a la producción y comercialización de larvas de camarón, la mayoría de ellos concentrados a lo largo del perfil costanero. Es de destacar que, a pesar del mejoramiento que se ha

desarrollado en estas empresas que han venido laborando años, se enfrentan aún en la actualidad a un factor limitante, el mismo que es el desarrollo de patógenos oportunistas que se presentan durante la producción, cuya presencia ha ocasionado pérdidas económicas sustanciales dentro del cultivo del camarón blanco, debido a las altas mortalidades registradas (Elgoul, 2016; Couttcau, 2016).

Para conllevar este problema de enfermedades, los laboratorios de larvas recurren al uso probióticos comerciales eficientes y aptos para atenuar patologías en estadíos iniciales, siendo el aislamiento de cepas del hospedero de interés un campo de investigación activo; sin embargo, la aplicación práctica de algunos de estos resultados de probióticos aisladas no resulta factible a nivel productivo (Toledo et al., 2018).

Por tal motivo el presente estudio tiene como fin analizar el crecimiento, supervivencia y estado sanitario de *L. vannamei*, suplementado con dos probióticos comerciales que contienen bacterias del género *Bacillus*, los mismos que son los más utilizados por sus beneficios. Uno de los más importantes es el control de la incidencia de Vibriosis, principal causante de altas mortalidades durante el cultivo (Dalmin, Kathiresan & Purushothaman, 2001; Silva et al., 2012 citado en Santos, 2018).

2. JUSTIFICACIÓN

En Ecuador el cultivo de camarón es de gran importancia económica por la cantidad de divisas y empleo que genera, siendo Santa Elena una de las provincias pioneras en la producción de larvas de camarón que provee a todo el país. En los últimos años la mayoría de estos laboratorios se han vistos afectados por la aparición de enfermedades emergentes, en especial por bacterias del género *Vibrio*, debido a la variación constante de los diversos factores que influyen en el desarrollo larval del camarón.

El método practicado para el manejo de poblaciones bacterianas era el uso de antibióticos, sin embargo, actualmente está practica ya no se ejecuta según el acuerdo ministerial 138, por las distintas consecuencias que ocasionó el uso indiscriminado de este producto. Esta situación forzó a los productores en la búsqueda de productos amigables con el medio ambiente, con una alta eficiencia en el control de enfermedades bacterianas (Villamil & Martínez-Silva, 2009), que los lleve a obtener altas y sostenibles producciones; esto dio lugar al empleo de probióticos, lo que con sus mecanismos de acción demostraron ser eficientes en el desarrollo de parámetros productivos relacionados con un mayor aprovechamiento de nutrientes, mejora del sistema inmune y mitigación de patologías en estadíos iniciales.

Cabe señalar que dada la gran variedad de estos productos comerciales que se aplican en la dieta, se desconoce de muchos su efectividad a escala productiva, su influencia

en los parámetros productivos, su dosificación adecuada y modo de administración en el cultivo. Por tal motivo en esta investigación se analizará la efectividad de dos probióticos comerciales y se evaluará su influencia en el desarrollo de los parámetros productivos y estado sanitario en la producción de larvas de camarón blanco mediante la inclusión en la dieta que es la mejor forma de usar estos productos. Esto con el fin de generar información que contribuya al sector productivo sobre la caracterización de estos dos probióticos, manejo y el modo de administración el cual depende mucho la efectividad de los mismos. Además, se dará a conocer los factores físicos y químicos del agua, importantes influyentes en el crecimiento, supervivencia del estadio larvario, así como también su relación con la aparición de agentes patógenos. Es trascendental disponer de investigaciones sobre los efectos del uso de estos probióticos comerciales que con frecuencia se utilizan por el sector de larvicultura a nivel local.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la aplicación de probióticos comerciales en la dieta larvaria del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) mediante el análisis de indicadores de crecimiento, supervivencia y estado sanitario determinando sus beneficios en términos de producción.

3.2 Objetivos específicos

- Registrar las variaciones de los parámetros físico – químicos (temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH) durante el cultivo de larvas *L. vannamei* con los tratamientos suministrados.
- Determinar el desarrollo de los parámetros productivos de las larvas *L. vannamei* dosificados con los tratamientos mediante el registro del crecimiento, biomasa, conversión alimenticia y supervivencia.
- Comparar la carga bacteriana de Vibrios bajo la inclusión de los dos probióticos comerciales mediante análisis microbiológicos estableciendo el probiótico con mejor resultado.

4. HIPÓTESIS

La aplicación de los probióticos comerciales en la dieta larvaria del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* son iguales al tratamiento sin probiótico en crecimiento, supervivencia y estado sanitario.

5. MARCO TEORICÓ

5.1 Generalidades del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

(Boone, 1931)

5.1.1 Clasificación taxonómica de *Litopenaeus vannamei*:

Phylum: Artropoda

Clase: Malacostraca

Orden: Decapoda

Suborden: Dendrobranchiata

Superfamilia: Penaeoidea

Familia: Penaeidae

Género: *Litopenaeus*

Especie: *vannamei* (Boone, 1931)

5.1.2 Desarrollo larvario

El desarrollo larval del camarón *L. vannamei* es un proceso complejo, sin embargo, todo da inicio cuando los huevos fecundados eclosionan y pasan a una serie de estadios larvales donde existen diferentes cambios morfológicos y fisiológicos, estos se describen a continuación:

Nauplio

Esta fase inicia después de haberse llevado a cabo la eclosión de los huevos, el cual presenta el primer estadio denominado Nauplio, el mismo que a su vez tiene 5 sub-estadios denominados Nauplio I, II, III, IV y V. En esta etapa los nauplios se alimentan principalmente de sus reservas vitelinas, presentan fototactismo positivo, un cuerpo periforme, un ocelo en la parte anterior, furca caudal, antena y anténula y mandíbula, a medida que va avanzando a cada sub-estadio se va produciendo un alargamiento del cuerpo además de diferenciaciones en la antena, anténula y en la furca caudal con el agregado de espinas. El tiempo para alcanzar el ultimo sub-estadio será de aproximadamente 30 - 40 horas, en condiciones favorables de temperatura (Morales, 1990, Arellano, 1993) (Figura 1).

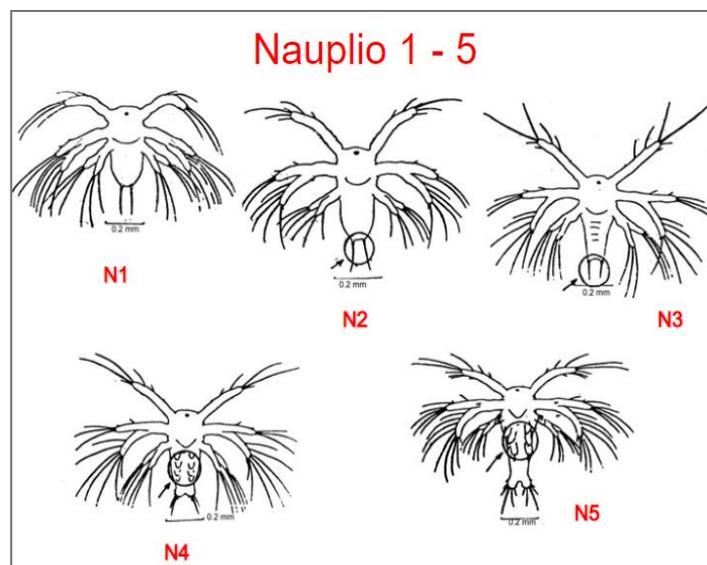


Figura 1. Sub – estadios de Nauplio

Fuente: Marcillo, 2010

Zoea

En este estadio Zoea se presentan tres sub-estadios larvales, Zoea I, II y III, se los diferencian del estadio anterior por presentar el cuerpo dividido en cabeza, tórax y abdomen, este pasa por distintos procesos de desarrollo las cuales en su primera fase se nota clara diferenciación de cabeza y abdomen, ojo naupliar presente (sésiles) y telson bilobulado, en su segunda fase se observa un caparazón con espina rostral y ojos compuestos pedunculados, en su tercera fase presenta espinas supra-orbitales más desarrolladas, telson separado del sexto segmento y urópodos presentes rudimentarios (Figura 2) (Soto Sarria & González, 2009).

Esta fase tiene una duración de 3 – 4 días, es decir aproximadamente un día por sub-estadios, su alimentación de basa de microalgas presentes en el agua (por no presentar cavidad bucal desarrollada) (Aquino, 2011).

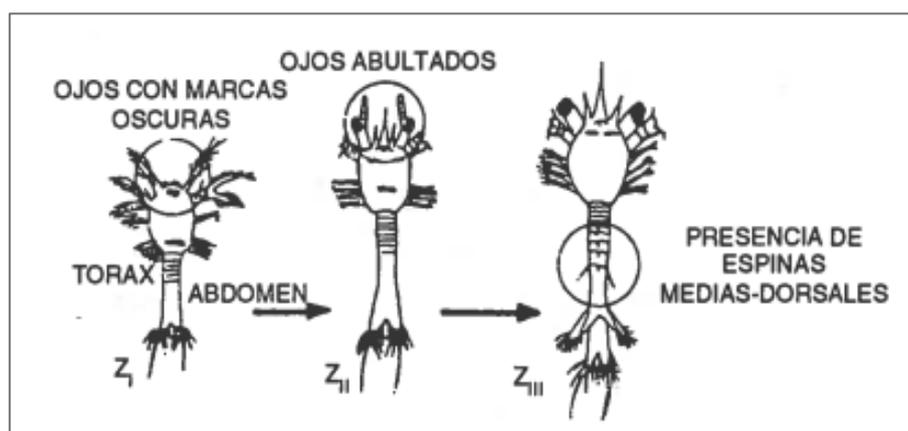


Figura 2. Sub – estadios de Zoea

Fuente: Motoh, 1979

Mysis

En esta fase presenta un cuerpo alargado y encorvado en la zona abdominal, pereiópodos bien desarrollados y funcionales, sin pleópodos en el primer estadio, este estadio posee tres sub-estadios los cuales son Mysis I, II y III con un tiempo de duración de tres días (Figura 3) (Fenucci, 1988).

Su alimentación se basa en microalgas, zooplancton y alimento balanceado con raciones de 4 a 6 cada 24 horas (Sarango, 2021).

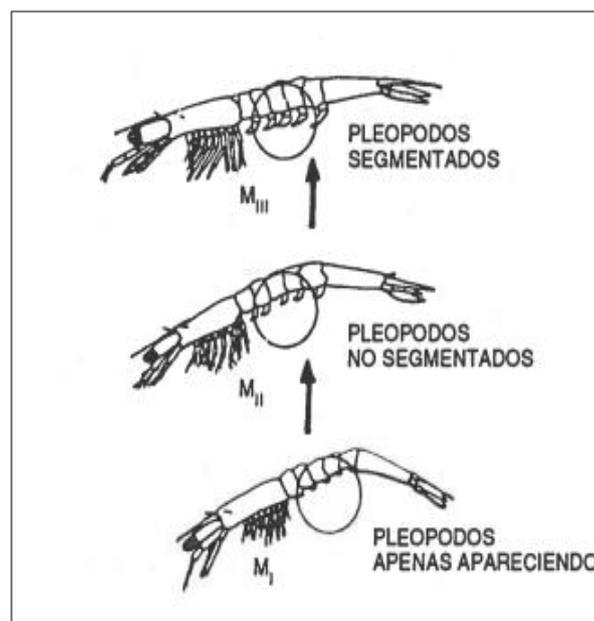


Figura 3. Sub – estadios de Mysis

Fuente: Motoh, 1979

Postlarva

Muy parecido en su aspecto al camarón adulto excepto en su forma rostral y sus órganos reproductores, presentan en el rostro 3 a 4 dientes en la parte dorsal al alcanzar 5 mm de longitud, pleópodos con sedas y la desaparición de los exopoditos de los pereiópodos (Machado et al., 2020) (Figura 4). Este estadio tiene una duración de aproximado de 20 días es decir un día por subestadio (Postlarva 1; 20), su alimentación se basa en alimento sólido y Artemia (Carvajal & Bolaños Núñez, 2013).

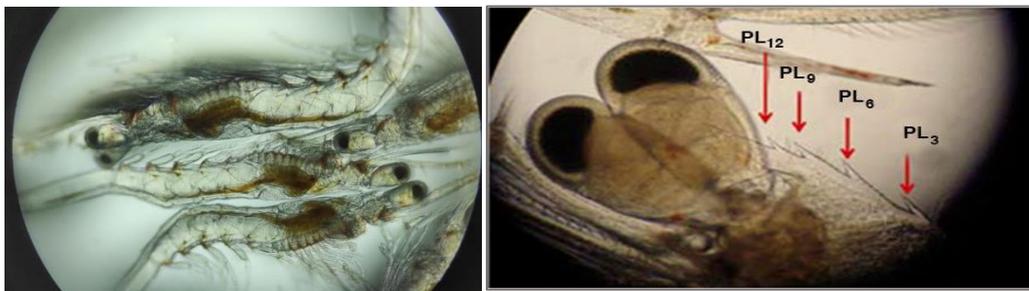


Figura 4. Postlarva

Fuente: Limsuwan & Ching, 2013

5.2 Manejo del cultivo del camarón blanco

La producción de camarón blanco es en la actualidad un rubro de exportación de gran importancia económica, por tal el motivo el desarrollo de buenas prácticas de manejo en el cultivo de camarón blanco principalmente en el monitoreo y manejo de la calidad de agua al igual del seguimiento de los parámetros físicos – químicos, surge ante la necesidad de anticipar y corregir el desarrollo de condiciones adversas que perjudiquen

la salud del organismo como del medio ambiente, además por alcanzar mayores niveles de eficiencia en la producción (Boyd et al., 2005).

5.2.1 Manejo y monitoreo de la calidad del agua

El manejo de la calidad del agua es uno de los conocimientos fundamentales que se debe tener presente debido a que es la base para la obtención de una buena producción y para la protección de la calidad ambiental. Según Boyd (1990), la calidad del agua en acuicultura puede definirse como la conveniencia del agua para el desarrollo de un cultivo. Aquí se incluyen los parámetros físicos, químicos y biológicos que caracterizan un cuerpo de agua e influyen en la producción de especies acuáticas.

Es importante destacar que el buen desarrollo del camarón en todas sus fases depende en gran parte del buen manejo y monitoreo de la calidad del agua, esto debido a que el deterioro de la misma puede ocasionar que la población del cultivo sea afectada por proliferación de patógenos con brotes de enfermedades, eventuales mortalidades, deformidades y/o bajas tasas de crecimiento. La forma más destacada de prevenir el deterioro de la calidad del agua en los estanques de cultivo durante el crecimiento es controlando densidades de siembra y tasas de alimentación además de ciertas acciones que permiten mantener o mejorar la calidad del agua, como son el uso de cal, filtración, fertilización (y otros tratamientos químicos), uso de probióticos, prebióticos, melaza, aireación y recambio de agua (Cuéllar-Anjel et al., 2010; Boyd et al., 2005).

Por otra parte, el monitoreo de la calidad del agua debe involucrar medición diaria de los parámetros físico- químicos, elaboración de registros con los valores obtenidos, análisis e interpretación frecuente de los datos obtenidos y la corrección de los valores a las condiciones óptimas en el sistema de cultivo. De acuerdo con Boyd (2001), entre los principales parámetros de calidad del agua que se deben monitorear para mantener las condiciones adecuadas en el estanque para una alta tasa de crecimiento, supervivencia y baja tasa de mortalidad del camarón están: salinidad, temperatura, alcalinidad, oxígeno disuelto y pH.

5.2.2 Parámetros Físico – Químicos

El manejo de los parámetros físicos – químicos es fundamental para el éxito de una buena producción, pues mediante la aplicación de los valores óptimos de dichos parámetros previene el desarrollo de condiciones adversas que afecten el desarrollo del organismo cultivado en cualquier sistema de producción.

5.2.2.1 Oxígeno disuelto

Según Mayarí et al. (2000), el oxígeno disuelto (OD) se define como la cantidad de oxígeno gaseoso que está disuelto en el agua, expresado normalmente en ppm (partes por millón) o en miligramos de oxígeno por litro (mg/L); siendo la concentración de esta variable el resultado del oxígeno que entra en el sistema y el que se consume por los organismos. Este es el parámetro más importante dentro de la acuicultura; en la camaronicultura este elemento limita el crecimiento y la supervivencia de los

organismos. Es así como una baja solubilidad de oxígeno afecta la salud de los organismos, provocando pérdidas en el cultivo por causas de estrés, bajo apetito, crecimiento lento, susceptibilidad a enfermedades y mortalidad (Carrillo, 2013; Boyd & Hanson, 2010).

En los estanques de cultivo, durante el día el fitoplancton produce oxígeno mediante la fotosíntesis, a menudo tan rápido que la concentración de OD en el agua sobrepasa la de saturación (sobresaturación) mientras que, durante la noche, si el estanque presenta contaminación en el agua, tendrá numerosos microorganismos y alta materia orgánica la cual junto con la respiración de los organismos provoca que la concentración de OD disminuya (Beltrán et al., 2012; Boyd, 1998 citado en Yambay & Álvarez, 2017). Un nivel alto de OD indica que el agua es de buena calidad (Sánchez & Gándara, 2011).

Un dato muy importante que considerar son los factores que afectan la solubilidad de los gases en el agua, como son la naturaleza química, temperatura y presión. Por lo cual la solubilidad del oxígeno en los estanques de cultivo dependerá de la temperatura, es decir a mayor temperatura será menor la disolución del oxígeno en el agua (Sánchez & Gándara, 2011; Muñoz Villón, 2022). El OD debe medirse mínimo dos veces por día, una vez por la mañana y una por la tarde, además es fundamental hacer lecturas de OD horas de la noche, en caso en que las concentraciones de la tarde estén por debajo de 6 mg/L; de esta manera, se pueden implementar correctivos necesarios para

evitar episodios de hipoxia, tales como recambio de agua y aplicación de insumos oxigenantes (Cuéllar-Anjel et al., 2010). A continuación, se puede observar efectos de diferentes concentraciones de OD en el cultivo de camarón blanco (Tabla 1):

Tabla 1. Efectos de diferentes concentraciones de oxígeno disuelto en el cultivo de camarón blanco.

Concentración de Oxígeno disuelto	Efecto
Menor de 1 o 2 mg/L	Mortal si la exposición dura más que unas horas.
2-4 mg/L	Crecimiento será lento si la baja de oxígeno disuelto se prolonga
4 mg/L – 12 mg/L	Mejor condición para crecimiento adecuado
> 12 mg/L	Sobresaturación: riesgo de la “enfermedad de la burbuja de gas”; puede ser indicativo de alta concentración de microalgas

Fuente: Cuéllar-Anjel et al., 2010

El género *Litopenaeus* requiere concentraciones de oxígeno disuelto mayor a 3 mg/L y óptimamente alrededor de 5 mg/L, esto ayuda en la reducción de la materia orgánica aumentando la capacidad de carga, los rangos mínimos para el cultivo serán de 4 mg/L y los máximos de 10 mg/L (Vinatea, 2014).

5.2.2.2 Salinidad

La salinidad se define como la concentración de iones (sales) disueltas en el agua, esta variable es una de las más influyentes en el metabolismo, gasto energético y tasa de crecimiento de las larvas de camarón blanco. La salinidad promedio del agua de mar es 35 UPS. Sin embargo, esta variable en los estanques de cultivo puede variar mucho, ya sea por la lluvia que disminuye la concentración de salinidad o por evaporación que ocasiona que aumente este parámetro (FAO, 1989).

Los rangos de tolerancia de la salinidad para los camarones son muy amplios y pueden sobrevivir de 0 UPS hasta 50 UPS (FAO, 1989). No obstante, Martínez & Lin (1994), expresan que salinidades altas (o bajas) los organismos marinos deben utilizar una gran parte de su energía para equilibrar su medio interior con el exterior, afectando el crecimiento y supervivencia del camarón además del efecto indirecto en el cultivo por la baja solubilidad del oxígeno en el agua y su disponibilidad para los organismos.

Los rangos óptimos de salinidad para un buen desarrollo del camarón según la FAO (1989), corresponden a un promedio de 15 a 25 UPS, aunque se ha descrito cultivos de esta especie que los rangos pueden oscilar entre 15 UPS (óptimo para su crecimiento) y no mayor de 35 UPS según Franco (1994). Mientras tanto, Sandoval et al. (2017), mencionan que se produce mejor con una salinidad superior a 5 ppm y que

la mayoría de los productores la prefieren entre 20 y 25 UPS por otro lado, Bermudes – Lizárraga et al. (2017), comentan que la salinidad en el crecimiento de las primeras etapas de vida del camarón *L. vannamei* le confieren un rol importante entre las variables hidrológicas del agua, sugiere que las empresas comerciales que producen post-larvas de camarón, mantengan los cultivos en los intervalos de salinidad de 25-35 UPS.

5.2.2.3 Temperatura

Al igual que la salinidad este factor físico influye en los organismos marinos y en el agua de los estanques de cultivo, esto debido a que en los organismos interviene en el metabolismo, el consumo de oxígeno, la tasa de alimentación, el crecimiento, muda, supervivencia y resistencia a Vibrios (Lightner et al., 2012) y en el agua de los estanques influye en la aceleración o disminución de la actividad biológica, la formación de depósitos, la precipitación de compuestos y los procesos de mezcla, sedimentación, absorción de oxígeno, floculación y filtración (Ramalho et al., 1990).

La temperatura corporal de los camarones es dependiente de la temperatura ambiental, por lo cual cambios bruscos en la temperatura del estanque de cultivo tienden a afectar el metabolismo y su actividad del organismo en general, aunque el efecto de la temperatura varía en los distintos componentes del metabolismo (Morris, 1999 citado

en Prymaczok, 2012). Cabe destacar que los procesos biológicos, el crecimiento y respiración se duplican por cada 10 °C que aumenta la temperatura. Esto significa que el camarón crece más rápido y consume el doble de oxígeno a los 30 °C que a los 20 °C, por esta razón el requerimiento de oxígeno es más crítico en las temperaturas cálidas que en las frías (Bermudes – Lizárraga et al., 2017)

Por otro lado, según Martínez (2012) los niveles óptimos de temperatura para el cultivo de camarones varían entre 28-33 °C. Mientras que la FAO (2010), menciona que al cultivar *L. vannamei* la temperatura debe presentar rangos mínimos estándares de entre los 28 °C, pero puede soportar de 20 °C hasta 35 °C.

5.2.2.4 pH

El pH es la concentración de iones hidrógeno de una solución, se mide de una escala de 0 a 14, mientras más lejano sea el pH de 7 el agua es más ácida o básica. Este parámetro es importante en el cultivo ya que nos indica si el agua se encuentra ácida (pH es inferior a 7) o básica (pH superior a 7) (Mendoza & Rodríguez, 2020). En los estanques de cultivo es indicativo de su fertilidad o productividad potencial, con pH entre 7,5 y 9,0 generalmente se considera adecuada para la producción de larvas de camarón (Sacasqui, 2017). Sin embargo, en los estanques de cultivo el pH puede presentar fluctuaciones durante el día y la noche por diversos factores, por lo cual es

importante mantener los rangos óptimos ya que si el pH cae por debajo de 5,0 se ve afectado el crecimiento, el metabolismo y otros procesos fisiológicos de los organismos (Miranda et al., 2010).

Los estanques de cultivo generalmente tienen un pH de 7,5 u 8 por la mañana, pero en la tarde generalmente suben a 8 u 9 debido a la fluctuación diaria del pH en los estanques, resultado de la variación de la concentración de dióxido de carbono, si la concentración de dióxido de carbono crece, la de iones de hidrógeno aumenta y el pH disminuye y, al contrario, si disminuye la concentración de dióxido de carbono, la de iones de hidrógeno cae y el pH aumenta (Boyd & Gautier 2000; Boyd & Tucker 1998; Martínez & Herrera, 2012). Es decir, durante el día el fitoplancton a través del proceso de fotosíntesis, hay consumo de CO_2 y a su vez hay producción por respiración de los organismos, por lo cual el pH aumentara del agua de cultivo, por la noche el fitoplancton no realiza la fotosíntesis, no se consume más CO_2 , pero continúa la respiración, y a medida que se acumula el dióxido de carbono el pH baja, esto se da porque cuando el CO_2 se disuelve en el agua se produce ácido carbónico.

La fluctuación diaria de este parámetro no siempre es tan grande, pero cuando el fitoplancton es abundante puede existir una gran fluctuación en el pH (Boyd, 2001; Andrews et al., 1996). Cuando el pH del agua es muy bajo, se puede aplicar cal en el estanque para mejorarlo. En el cultivo un pH bajo es más común que uno alto, ya que

no hay procedimientos confiables para reducirlo, cabe mencionar que las aguas de alcalinidad moderada están más amortiguadas y el grado de fluctuación del pH es menor (Boyd, 2001; Fenucci, 1988; Sacasqui, 2017).

Por otro lado, según Fenucci (1988), los valores de 7 a 9 en el agua está considerada como apta para los sistemas de cultivo de camarones peneidos, sin embargo, Villalón (1994) señala que el rango óptimo de pH para el cultivo de camarón es de 7.5 en la mañana y 8.5 en la tarde, el cual está muy relacionado con la actividad fotosintética del fitoplancton, al igual Kubitza (2017), quien indica que los camarones cultivados bajo estos rangos presentan mejores resultados de producción y salud ya que estos valores coinciden con el pH de su hemolinfa. A continuación, en la figura 5 se puede observar los posibles efectos sobre el crecimiento, inmunidad y supervivencia con los diferentes rangos de pH:

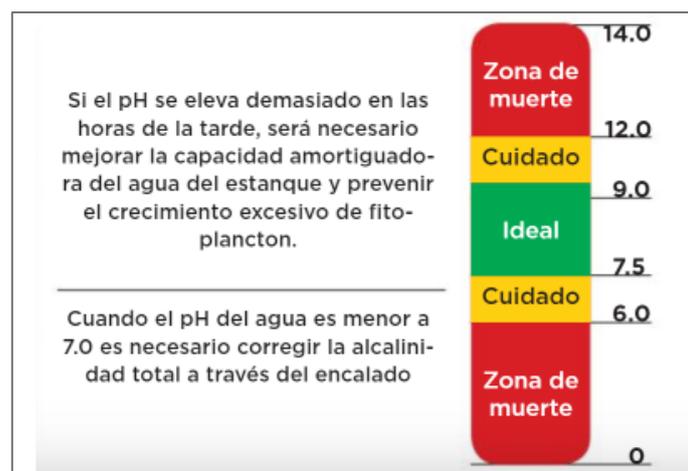


Figura 5. Posibles efectos del pH en el cultivo de Camarón

Fuente: Kubitza, 2017

5.2.2.5 Alcalinidad

La alcalinidad es la concentración total de bases en el agua, expresada en mg/L de carbonato de calcio. Las bases en el agua son: hidróxido, amonio, borato, fosfato, silicato, bicarbonato y carbonato. En la mayoría de los estanques de cultivo la concentración de bicarbonato y carbonato es superior por mucho a la de las otras bases. La capacidad amortiguadora del pH en el agua está dada por la presencia de estos dos iones, lo que quiere decir que si una gran cantidad de carbonato y bicarbonato está presente en el agua el pH se mantendrá estable. Aguas con alcalinidad alta ayudan a que se mantenga mayor valor de pH por las mañanas, mientras que aguas con baja alcalinidad facilitan los cambios de pH (Boyd, 2001).

Por otra parte, los rangos óptimos de alcalinidad según Boyd (2001), este valor debe ser superior a 75 mg/L en estanques de camarón considerando que el agua de mar tiene un valor promedio de 120 mg/L, mientras Limsuwan (2005), indica que el rango óptimo de alcalinidad está entre 80 y 100 mg/L, el cual en los estanques no debe bajar de 80 mg/L CaCO_3 para lograr un óptimo crecimiento y buena supervivencia. Si de estos rangos aumentan el pH se torna alcalino afectando en los procesos de muda y si baja de estos estándares acidifican el agua causando estrés oxidativo (Boyd, 1998). Para recuperar los niveles de alcalinidad se puede aplicar cal.

5.3 Principales enfermedades Bacterianas en larvicultura del Camarón Blanco

(L. vannamei)

La presencia de enfermedades causada por bacterianas, hongos, parásitos o virus en los cultivos de Larvicultura, es el principal obstáculo para una producción exitosa. En Ecuador en los últimos años la producción de laboratorios de cría larvaria del camarón blanco ha sufrido grandes pérdidas económicas por estas enfermedades infecciosas, especialmente por enfermedades bacterianas que son bastante comunes y probablemente la principal causa de mortalidad durante el cultivo (Newman, 2022; Reyes, 2021).

Estas enfermedades a menudo son ocasionadas por patógenos que se encuentran en el medio de forma natural, muchos de ellos son oportunistas, es decir mientras el cultivo se encuentre en buenas condiciones los patógenos no desencadenaran el desarrollo de infecciones en los organismos, sin embargo, factores como la calidad y condición del camarón, mala calidad del agua. Los factores ambientales e intensificación de los métodos de producción, entre otros; ocasionan estrés a los organismos, haciéndolos susceptibles a dichos patógenos, las especies causantes de altas mortalidades en larvas de camarón son las del género *Vibrio* que se encuentran localizadas en el tracto digestivo, branquias, cutícula y ocasionalmente en hemolinfa (Morales-Covarrubias, 2008). Algunas enfermedades se presentan también con erosiones de la cutícula cubriendo la superficie del cuerpo, necrosis, lesiones internas y septicemias generalizadas (Lightner, 1984). En las larvas infectadas puede observarse una

colonización bacteriana de la mayoría de los apéndices y de la zona oral, conforme avanza la enfermedad, las bacterias penetran por el tubo digestivo colonizando el intestino medio, hepatopáncreas y eventualmente causando una septicemia (Lightner & McVey, 1993).

5.3.1 El Género *Vibrio*

El género *Vibrio* corresponde a bacterias Gram – negativas cuyo hábitat natural son los ecosistemas marinos y estuarinos. Presentan forma de bacilo, no forman esporas y son motiles mediante un flagelo ubicado en uno de los polos del cuerpo celular (Tinoco & Dreyfus, 2015). Estos microorganismos pueden constituir casi un 60% de la población bacteriana del medio ambiente en algunas regiones estuarinas y son parte de la flora autóctona de los organismos marinos (Aguirre-Guzmán et al., 2013). Algunas especies del género *Vibrio* cumplen un rol muy importante en la producción acuícola; como en el mejoramiento de la calidad del agua y, como biotransformadores de la materia orgánica. Sin embargo, algunas especies de este género son el principal patógeno bacteriano de enfermedades como la Vibriosis durante el cultivo (Dulanto-Gomez, 2013).

5.3.2 Vibriosis

La Vibriosis es una enfermedad bacteriana originada por un grupo de bacterias gramnegativas pertenecientes al género *Vibrio*, en la producción del camarón blanco ha sido la principal causa de mortalidades tanto en la fase de larvicultura como en fase

la de engorde, durante el cultivo los brotes de Vibriosis suelen darse cuando hay un cambio súbito de las condiciones ambientales u otros factores, provocando un aumento en la velocidad de la reproducción bacteriana, superándose así las cargas toleradas por el organismo (Cuéllar-Anjel, 2013a).

Según Widanarni et al. (2003), Austin (2010) y Mohajeri et al. (2011), las principales especies que han sido reportadas como causantes de infecciones en larvicultura de camarones son: *Vibrio campbellii*, *V. harveyi*, y *V. parahaemolyticus*. De las cuales las principales manifestaciones de la Vibriosis en larvas de camarón son: “coloración rojiza acompañada de cromatóforos expandidos, músculo abdominal opaco, muda pegada, acalambramiento, melanización y degeneración con pérdida de las setas de los apéndices” (Cuéllar-Anjel, 2013a).

5.3.2.1 Tipos de Vibriosis y su impacto sobre el cultivo del camarón blanco (*L. vannamei*)

El impacto de las enfermedades bacterianas ocasionadas por el género *Vibrio*, ha generado grandes pérdidas económicas por las altas tasas de mortalidad de las producciones afectadas (Peña-Navarro & Varela-Mejías, 2015). En Ecuador el aumento de la densidad de siembra y el deterioro del control de los parámetros productivos, han provocado el desarrollo de varias enfermedades bacterianas causadas por el género *Vibrio*, lo que ha ocasionado grandes pérdidas económicas (Morales-Covarrubias et al., 2011). Es así como, en el año 2022, durante el monitoreo de

patógenos en camaronas en diferentes zonas de Guayas y el Oro, Medranda et al. (2022) comentan “se observaron crecimientos bacterianos en Agar TCBS (presuntivo para *Vibrios*), donde las zonas de Ponguillo y Santa Rosa resultaron con alta presencia de colonias amarillas y verdes al igual que las otras zonas de estudio”.

Por otro lado, en una investigación bibliográfica realizada por Reyes-Mero (2021) y Suárez et al. (2015), se reportaron que entre los principales agentes infecciosos de origen bacteriano que se encuentra distribuido en un estanque de cultivo de camarón, es el *Vibrio parahaemolyticus* que afecta al camarón en sus primeras etapas de estadío ocasionando pérdidas significativas durante la producción, seguido del *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *V. harveyi* los cuales han sido asociados a enfermedades por Vibriosis responsables de altos porcentajes de mortalidad.

Debido a los distintos tipos especies de *Vibrio* que se presentan en los estanques de cultivo, existen también distintos tipos de Vibriosis durante el cultivo, a continuación, se presenta una lista parcial de especies de *Vibrio* y bacterias intracelulares que han sido reportadas como patógenas durante el desarrollo del camarón (Tabla 2):

Tabla 2. Enfermedades ocasionadas por especies del género *Vibrio*.

Especies	Enfermedad	Signos Clínicos	Referencia
<i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. alginolyticus</i> , <i>Photobacterium daunselae</i> , <i>V. campbellii</i> , y <i>V. harveyi</i> .	Vibriosis sistémica o Síndrome de la Gaviota	Se observan mortalidades altas (hasta un 90%), en postlarvas y juveniles tempranos, ocasiona severo estrés, nado errático a orilla de los estanques, expansión de los cromatóforos, HP inflamado además su musculatura se vuelve opaco y tracto digestivo vacío.	(Tenecota et al., 2018); Morales-Covarrubias, 2008)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS o AHPND)	Nado errático, crecimiento lento, coloración pálida, tamaño del HP notablemente reducido (atrofia), textura blanda del exoesqueleto, Intestino con presencia entrecortada de alimento o sin alimento, los camarones enfermos se van hacia el fondo del estanque.	(Lightner, 2013; Morales et al., 2016)
Bacterias luminiscentes, y la bacteria más predominante que se ha aislado en esta enfermedad es <i>Vibrio harveyi</i>	Enfermedad de luminiscencia	Responsable de altas mortalidades (80%), en los laboratorios de larvicultura, los organismos infectados se presentan con luminiscencia, letargo, nado errático, permanencia en el fondo del tanque.	(Morales-Covarrubias, 2008)
En Ecuador el agente causal de esta enfermedad es <i>Vibrio harveyi</i> , mientras que otros autores reportan la posible presencia de bacterias intracelulares.	Síndrome de Zoea II o Bolitas Blancas	Se presentan altas mortalidades en Zoea II, falta de apetito, rápida evacuación del contenido intestinal, letargo con nado errático y la permanencia de los organismos infectados en el fondo del tanque.	(Brock & Main 1994; Morales-Covarrubias, 2008)
Bacterias intracelulares del tipo de las rickettsias.	(NHP) Hepatopancreatitis necrotizante	Entre los principales signos clínicos están; la reducción en el consumo de alimento en postlarvas tardías, juveniles y adultos hasta dejar de comer por completo, afectación del HP de	(Cuéllar-Anjel, 2013b; Morales-Covarrubias, 2008).

		los camarones infectados, aumenta la tasa de conversión de alimento, letargia, intestino vacío, cromatóforos expandidos y branquias amarillas o cafés.	
--	--	--	--

5.4 Estrategias profilácticas para el control de enfermedades bacterianas

La producción de larvas de camarón *L. vannamei* en cualquier sistema de cultivo son susceptibles a infecciones bacterianas, existen varios métodos para el control de dichas enfermedades, entre ellos se encuentran los métodos terapéuticos y métodos profilácticos, implementadas como medidas de intervención para el aseguramiento de la calidad con el fin de prevenir altas tasas de mortalidades por enfermedades bacterianas durante el cultivo (Lombana et al., 2016). El primero en mención ya no se ejecuta en la producción del camarón debido al uso incorrecto de los antibióticos que produjo resistencia bacteriana, la persistencia en el medio acuático, las alteraciones sobre la biogeoquímica del sedimento, la acumulación de residuos de antibióticos en los tejidos de camarón que alteraran la flora intestinal y problemas en la salud humana (Ma et al., 2006), mientras que el segundo en mención ayuda a la prevención de enfermedades por medio de la mejora de la actividad inmune del organismo. En la actualidad este último es el método más utilizado por los laboratorios de producción de camarón debido a los innumerables beneficiosos que ejercen en el hospedero y por la disminución de la incidencia de enfermedades y de los factores estresantes de las condiciones de cultivo además varias investigaciones han reportado que esta estrategia biológica es amigable con el medio ambiente y contribuye a una mejor producción (Sorroza et al., 2009).

Dentro de los métodos profilácticos se encuentran el uso de probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y aceites esenciales. Estos son utilizados de acuerdo con la necesidad del cultivo sin embargo la implementación de los probióticos ha mostrado ser un método viable por la habilidad que poseen las cepas seleccionadas para impedir el crecimiento de bacterias oportunistas e influir en general en el establecimiento de la comunidad microbiana tanto en los individuos como en el agua del cultivo (Villamil-Díaz & Martínez-Silva, 2009).

5.5 Probióticos

La definición de probiótico fue acuñada por Parker (1974), quien estableció que son “organismos o sustancias que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal”. Hoy en día, el término probiótico ha recibido una multitud de definiciones. Sin embargo, la definición precisa de probióticos a la que todavía se hace referencia ampliamente es la de Verschuere et al. (2000), donde señalan que el probiótico “es un suplemento vivo microbiano que tiene efectos beneficiosos en el hospedador modificando la flora asociada al mismo y la flora asociada al ambiente” (p.4). Y posteriormente, la FAO / OMS (2001), incluye en este concepto la frase “cuando son administradas en cantidades adecuadas, confieren beneficios para la salud del hospedero” (p.2).

La definición del probiótico está en continua evolución en un intento de adaptarse a los nuevos conocimientos que surgen de los trabajos de investigación con probióticos. Cabe mencionar que se han descrito en varias investigaciones que microorganismos

no necesariamente vivos e incluso componentes celulares, pueden ejercer efectos beneficiosos para el hospedero (Ouwehand & Salminen, 1998; Isolauri et al., 2002; Díaz-Rosales et al., 2006; Sharifuzzaman et al., 2011; Román et al., 2012 citado en Román, 2013).

La utilización de los probióticos en la acuicultura surgió como una buena alternativa para reemplazar a los antibióticos y por la creciente demanda de una producción sustentable. Como resultado varios probióticos como *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Nitrosomonas*, *Cellulomonas*, *Nitrobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Rhodopseudomonas*, entre otros, se han descubierto y se han utilizado en la producción de camarón como en otros organismos de cultivo para mejorar el crecimiento, la absorción de nutrientes, el sistema inmunológico, calidad del agua y las tasa de supervivencia de los hospederos a lo largo de los años (Nayak, 2010; Hai, 2015).

5.5.1 Características principales de un microorganismo probiótico

Las características principales que debe tener un microorganismo para ser considerado como probiótico según Fuller (1989), Kesarcodi-Watson et al. (2008) y Fuller (1992) son los siguientes:

- Antagonismo frente a patógenos.
- No dañar al hospedero.

- Debe proporcionar beneficios al hospedero, como el incremento de la respuesta inmune.
- Deben ser viables y capaces de ser aceptado por el hospedero a través de la ingestión, colonización y posterior reproducción dentro del mismo.
- Los microorganismos probióticos no deben tener efectos tóxicos o patogénicos en el hospedero.
- Ausencia de genes de resistencia a antibióticos o genes de virulencia.
- Poseer estabilidad en condiciones de almacenamiento y de campo.
- El origen del probiótico, de preferencia, debe ser aislado de la especie hospedera en la cual van a ser utilizados, debido a que se ha demostrado que este tipo de probióticos tienen mejores oportunidades de competir con las bacterias patógenas u oportunistas residentes y establecerse numerosamente en el hospedero (Mora & Nuñez, 2020).

Los probióticos deben seleccionarse con base en su actividad inhibidora contra los patógenos *in vitro* sin embargo es transcendental acompañar con pruebas *in vivo* para determinar su seguridad o la patogenicidad en los hospederos (Pérez-Chabela et al., 2020).

5.5.2 Mecanismos de acción

Los probióticos se encuentran constituidos por microorganismos vivos que ejercen muchos beneficios mediante varios mecanismos de acción, diversas investigaciones han demostrado y han facilitado el entendimiento de los modos de acción de los probióticos en el hospedero, la comunidad microbiana y el ambiente que le rodea (Toledo, 2018). Entre los principales mecanismos de acción descritos para probióticos que se emplean en acuicultura se describen a continuación:

5.5.2.1 Colonización y adhesión en el tracto gastrointestinal

El entendimiento de este mecanismo es muy importante ya que permite conocer la habilidad de las bacterias a utilizarse en el cultivo para adherirse, sobrevivir y establecerse en el tracto gastrointestinal. La capacidad de adherencia es una característica que es aprovechada, tanto por las bacterias probióticas como por las patógenas. En el caso de las bacterias probióticas, este mecanismo ha sido uno de los criterios más fundamentales para su selección y aplicación en el cultivo (Salminen et al., 1996; Nikoskelainen et al., 2003), mientras que para las bacterias patógenas la habilidad de adhesión se relaciona con la virulencia y se considera como el primer paso para una infección (Bengmark, 1998).

5.5.2.2 Producción de antimicrobianos y compuestos antivirales

Los microorganismos con actividad probiótica tienen la capacidad de liberar productos extracelulares que inhiben a otras bacterias potencialmente patógenas, entre los principales se encuentran:

- Producción de ácidos grasos de cadena corta (ácido acético, fórmico, láctico), en el hospedero ocasiona un aumento en la acidez intestinal que limita el asentamiento y crecimiento de bacterias patógenas (Ten Brink et al., 1987; Mombelli & Gismondo, 2000; Klewicki & Klewicka, 2004; Balcázar et al., 2007).
- Generación de bacteriocinas, este se ha encontrado en casi todas las especies bacterianas.
- Sideróforos (compuestos quelantes) de hierro.
- Metabolitos peptídicos de síntesis ribosomal producidos por distintos tipos de bacterias, como el grupo de las bacterias ácido-lácticas (Chikindas et al., 1993; Montville & Chen, 1998).
- Producción de Peróxido de Hidrogeno, este metabolito en el medio resulta extremadamente toxico para otras bacterias que comparten el hábitat y son así eliminadas del tracto intestinal (Bruno & Montville, 1993; Budde et al., 2003).
- Se ha descrito efectos antivirales de algunos aislados como *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp., contra el virus de la necrosis hematopoyética (IHHNV) (Kamei et al., 1988), sin embargo, el mecanismo de acción aún se desconoce.

5.5.2.3 Producción de compuestos benéficos

Otro mecanismo de acción de las cepas probióticas es el aporte de metabolitos secundarios con efecto benéfico en el hospedero, entre los principales se encuentra:

- Enzimas extracelulares, las bacterias probióticas una vez que se hayan adherido al tracto intestinal necesitarán carbohidratos para su crecimiento y comenzarán a producir enzimas digestivas (lipasas, amilasas, carbohidrasas y proteasas), estas a su vez pueden contribuir al proceso digestivo de nutrientes en los organismos cultivados (Shen et al., 2010; Zokaeifar et al., 2012; Chai et al., 2016; Seenivasan et al., 2016; Xue et al., 2016; Ochoa- Solano & Olmos-Sotos, 2006; Want et al., 2007).
- Algunos ácidos orgánicos (fórmico, acético, propiónico, butírico y láctico) (Pérez-Chabela et al., 2020) y vitaminas.

5.5.2.4 Inhibición de la Actividad anti-Quorum sensing (QS)

El antagonismo contra patógenos forma parte de uno de los criterios de selección más empleados para la obtención de nuevas cepas con potencial probiótico (Priyaja et al., 2014; Shazwani et al., 2015). La expresión de varios de los genes involucrados en la patogenicidad en bacterias está regulada por el quorum sensing (QS). El Quorum Sensing (QS) es la forma de comunicación bacteriana célula – célula mediada por moléculas señales que provocan respuestas dependientes de la densidad poblacional (Defoirdt et al., 2010). La inhibición del QS es una nueva estrategia antiinfecciosa que se está utilizando en acuicultura, ya que este podría permitir el control de las

enfermedades bacterianas con una menor tendencia al desarrollo de resistencia y a la alteración de la microbiota normal del hospedero (Defoirdt, 2016).

Entre las estrategias utilizadas para el anti-QS es el empleo de inhibidores y enzimas degradadoras de AHL (acil-homoserín-lactonas; moléculas señal inductoras) (Brackman et al., 2008; Pande et al., 2013; Torres et al., 2013). Las enzimas degradadoras de AHL tienen amplia distribución en bacterias, especialmente en especies del género *Bacillus* (Defoirdt et al., 2011).

5.5.2.5 Estimulación del sistema inmune

En los camarones la respuesta inmune se presenta en dos fases, una inmediata no deducible asociada a los efectores celulares y una fase inducida humoral por la participación de las proteínas plasmáticas (Thörnqvist & Söderhäll, 1997). La inclusión de probióticos en el cultivo del camarón puede estimular el sistema inmune de tres maneras (Fuller, 1992):

- Aumento de la actividad de los macrófagos, que se muestra por la capacidad mejorada para fagocitar microorganismos o partículas de carbono,
- Aumentar la producción de anticuerpos sistémicos, generalmente de inmunoglobulina e interferón (un agente antiviral inespecífico),
- Aumentar los anticuerpos locales en las superficies mucosas, como la pared intestinal.

Cabe recalcar, que en la respuesta inmune celular varias moléculas se han presentado como principales estimulantes de las funciones celulares, entre ellos B-glucanos (BG presentes en la pared celular de los hongos y levaduras), lipopolisacáridos (LPS principal componente de la pared celular de las bacterias gramnegativas) y peptidoglucanos (PG proceden de la pared celular de las bacterias grampositivas) (Itami et al., 1998). Estos compuestos actúan como moléculas señalizadoras para activar el sistema inmune del hospedero (Akhter et al., 2015).

5.5.2.6 Mejora de la calidad del agua

Varias investigaciones han reportado el mejoramiento de la calidad del agua mediante la adición de cepas probióticas, entre estas se encuentran la utilización de bacterias grampositivas, principalmente del género *Bacillus*, que pueden convertir la materia orgánica en CO₂ (Dalmin et al., 2001; Zokaeifar et al., 2014). Durante el cultivo ciertas bacterias son utilizadas para controlar niveles de amonio, nitritos, materia orgánica, nitratos, entre otros, Melgar Valdés et al. (2013) encontraron que la aplicación de bacterias ácido-lácticas y levaduras redujeron la materia orgánica, la concentración de nitratos, reguló el pH e incrementó la disponibilidad de fósforo en el agua. Este mismo fenómeno también fue observado por Nimrat et al. (2012), quienes observaron que la aplicación de especies de *Bacillus* mejora la calidad del agua del sistema de cultivo y la reducción de concentraciones de amonio, nitrito y nitrato en el agua.

Las bacterias con un potencial biorremediador (como las de los géneros *Bacillus*, *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Pseudomonas*, *Rhodopseudomonas*, *Cellulomonas*, y *Acinetobacter*), son utilizadas en la modulación del perfil microbiológico de los estanques, regulando la microbiota en el agua, controlando los niveles de nitrato, amonio, nitrito y favoreciendo la reducción de prevalencia de patógenos oportunistas en el medio (Kumar et al., 2016; Chumpol et al., 2017).

6.5.3 Uso de probióticos en el cultivo de Camarón y sus principales efectos

Los probióticos (experimentales y comerciales), en la producción de camarón en cualquier sistema de cultivo son adicionados para controlar e inhibir patógenos causantes de enfermedades, para modificar las comunidades microbianas en el agua y sedimento, aumentar la capacidad de respuesta inmunológica, mejorar la digestibilidad de nutrientes, mejorar la calidad del agua, para la tolerancia a etapas de estrés, entre otros. Además, se han utilizado por las diversas investigaciones que han mencionado efectos positivos sobre los indicadores productivos como en el crecimiento y supervivencia de los organismos de cultivo (Jory, 1998; Lara-Flores et al., 2003).

Los probióticos que se utilizan comúnmente dentro de un cultivo de camarón u otro organismo de cultivo, son aquellos que contienen bacterias gramnegativas o grampositivas (Vieira et al., 2017). Dentro del primero en mención, se encuentran los géneros *Vibrios*, *Pseudomonas* y *Aeromonas* mientras que, dentro del segundo en

mención, pertenecen al grupo de las bacterias ácido lácticas y al género *Bacillus*. (Akhter et al. 2015).

- **Bacterias Gram negativas**

En el género *Aeromonas*, estudios *in vitro* e *in vivo* han confirmado su capacidad inhibitoria frente a varios patógenos por producción de bacteriocinas (Abbas et al., 2010). Este mismo fenómeno fue observado *in vitro* por cepas de *Pseudomonas* que mostraron tener la capacidad de inhibir el crecimiento de especies de *Vibrios* (*V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. 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 utilizados como probiótico pueden aumentar la resistencia frente a infecciones por otros *Vibrios* además pueden entrar a competir con otras bacterias del cultivo inhibiendo posibles patógenos del sistema (Balcázar et al., 2007; Vieira et al., 2017), sin embargo, a pesar de presentar inhibición a varios patógenos en el cultivo con la implementación de estos géneros, según Kesarcordi – Watson et al. (2012), la implementación de bacterias gramnegativas está sujeto al riesgo de transferencia de material genético produciendo resistencias o virulencias.

- **Bacterias Gram positivas**

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos que se caracterizan por la producción de ácido-láctico como resultado metabólico final de la fermentación de carbohidratos (Monroy et al., 2009), por producir compuestos antimicrobianos, por replicarse fácilmente y por estimular la respuesta inmune no específica del hospedero (Carr et al., 2002; Balcázar et al., 2007).

Estas bacterias grampositivas tienen forma de cocos o bacilos, no forman esporas, la mayoría son inmóviles, anaerobios, catalasa y oxidasa negativas. Este grupo es probablemente el más abundante en la naturaleza, debido a la capacidad que poseen de crecer en varios sustratos, a su tolerancia a la acidez o alcalinidad, la capacidad para crecer en altas salinidades y a diversas condiciones biológicas. Dentro de este grupo que se utilizan comúnmente en el cultivo se encuentran los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus* (Carr et al., 2002).

En el cultivo de camarón el uso de bacterias ácido-lácticas en la dieta ha mostrado que puede incrementar su población en el intestino, disminuyendo la prevalencia de varias cepas de *Vibrio*, además aumentando la respuesta inmune del hospedero frente a infección con patógenos y consecuentemente aumentando la sobrevivencia (Vieira et al. 2010; Bolívar-Ramírez et al., 2013).

Por otro lado, diversas investigaciones han demostrado que el género *Bacillus*, posee mejores propiedades probióticas, debido a su capacidad para producir sustancias antimicrobianas, inhibiendo patógenos y ayudando en la digestión de nutrientes en el hospedero, además se han caracterizado por su capacidad de esporulación (es decir, que prolongan su período de eficacia), que les otorga una doble ventaja en términos de supervivencia (tolerancia al calor y mayor vida útil), en diversos entornos (Kavitha et al., 2018; Abriouel et al., 2011; Geng et al., 2012).

Estas bacterias grampositivas se caracterizan por su forma bacilar, movilidad flagelar y por producir endosporas, poseen una habilidad fisiológica para resistir al calor, pH, luz ultravioleta, desecación, solventes orgánicos y salinidad extremas, este grupo es uno de los más diversos entre las características que destacan a este género es su crecimiento aerobio o en ocasiones anaerobio facultativo (Slepecky, 1992; Tejera-Hernández et al., 2011). En acuicultura diversas especies de *Bacillus* se han utilizado como probióticos: *B. subtilis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefacien* y *Bacillus coagulans* (Cutting 2011; Prieto et al., 2012).

5.5.4 Modos de administración de probióticos

Los probióticos en el cultivo pueden aplicarse de manera individual o combinados con otros probióticos (Kesarcodei-Watson et al., 2008; Allameh et al., 2015), esta estrategia ha ganado mucho interés en la última década (Mukherjee et al., 2019). Se ha observado

que los probióticos basados en una sola cepa son menos efectivos que aquellos basados en múltiples cepas, estos han demostrado que mejoran la protección contra la infección de patógenos (Verschuere *et al.*, 2000; Hai *et al.*, 2009). En los últimos años se ha abierto una enorme posibilidad a la realización de más estudios sobre los efectos de la combinación de probióticos con prebióticos (oligosacáridos, galacto-oligosacáridos (GOS), manano-oligosacáridos (MOS), polisacáridos, β -glucanos) (Dierckens *et al.*, 2009; Schaeck *et al.*, 2016).

Esta combinación conocida como producto simbiótico son bien conocidos en acuicultura (Ringø & Song, 2015). La presencia simultánea de los probióticos (microorganismos vivos) y prebióticos (ingredientes alimentarios no digeribles (por el hospedero)) recompensa al hospedador (Dawood & Koshio, 2016), ya que se incrementa la actividad de los probióticos cuando existe el aporte de los prebióticos (Akhter *et al.*, 2015), esto debido a que la adición de los prebióticos sirve como fuente de energía para el aumento del crecimiento de las bacterias benéficas del tracto intestinal (Song *et al.*, 2014). Cabe recalcar, que para que un compuesto pueda ser considerado prebiótico, tiene que cumplir algunos criterios como: resistir a la hidrólisis ácida y enzimática del tracto intestinal, ser un sustrato selectivo para el crecimiento de bacterias benéficas y debe tener efectos benéficos en la salud del organismo (O'sullivan *et al.*, 2010).

Por otra parte, la administración de probióticos de manera individual o combinados dependerá de varios factores, entre ellos la dosis, las cepas probióticas en sí, y la duración de la administración (Ringø, 2020). Existen muchos modos de administración de los probióticos, sin embargo, por lo general los métodos más comúnmente utilizados son mediante administración dietética, administración directa al agua del cultivo y por Microencapsulación – Bioencapsulación.

5.5.4.1 Administración en la dieta

La adición de los probióticos en la dieta es una de las formas más empleadas (Shen et al., 2010; Liu et al., 2014), los beneficios de la inclusión incluyen mejoras en los valores de los alimentos, contribuciones a la digestión enzimática, inhibición de microorganismos patógenos, mejor aprovechamiento de los nutrientes ingeridos y respuesta inmune mejorada (Zokaeifar et al., 2012; Yanbo & Zirong, 2006; Wang, 2007; Kuhlwein et al., 2014;). Para suministrar el probiótico en la dieta se puede realizar directamente en los pellets (ya sea con sustancias pegantes o sin pegantes) a una temperatura adecuada o en la fábrica de balanceado (Kumar et al., 2016).

Cabe señalar que, a pesar de presentar varios beneficios de la suplementación de cepas probióticas en la dieta, de acuerdo con la FAO y la OMS, los organismos probióticos utilizados en los alimentos deben ser capaces de sobrevivir al paso por el intestino, resistir a los jugos gástricos, a la exposición a la bilis, ser capaces de proliferar y colonizar en el tracto digestivo (Senok et al., 2005) y a otras condiciones físicas y

químicas extremas que podrían afectar la eficacia, viabilidad y potencia del producto y consecuentemente disminuir su efecto en el hospedero (Nimrat et al., 2011), de allí la importancia de evaluar su efectividad en el cultivo. En referencia a la dosificación, se han aplicado un amplio rango de dosificaciones de bacterias probióticas en la dieta, sin embargo, la concentración más utilizada se sitúa entre los valores de 10^5 - 10^9 UFC/g de pienso (Hai, 2015).

5.5.4.2 Administración en el agua

En este modo de administración los probióticos pueden ser agregados directamente al agua del cultivo, estos modificaran la composición bacteriana del agua y sedimentos (Ashraf, 2000), estudios mencionan que la aplicación de las bacterias probióticas en el agua mejora los parámetros de la calidad del agua e inhibe los patógenos en el agua (Venkateswara, 2007; Wang & Gu, 2010). Según Melgar Valdés et al. (2013), para alcanzar buenos resultados es importante mantener una frecuencia de aplicación durante todo el ciclo de cultivo, las aplicaciones estarán en función del tipo de probiótico que se utilice.

5.5.4.3 Administración por microencapsulación – Bioencapsulación

La microencapsulación es un método alternativo que consiste en recubrir las células con una matriz de polímeros, principalmente por alginatos, esto con el fin de proteger física y químicamente los microorganismos, este método permite extender los periodos de almacenamiento de los cultivos, mejorar su viabilidad en los alimentos y en el tracto

intestinal de sus hospederos (Nimrat et al., 2012). Los métodos utilizados en la microencapsulación de probióticos son la emulsión, extrusión, secado por pulverización, inmovilización y adhesión de almidón (Jaramillo, 2018).

La bioencapsulación es el proceso de inoculación de probióticos en alimentos vivos de alto valor nutritivo como son en los rotíferos, Artemia y microalgas. Estos son utilizados como vehículos para la administración mediante su capacidad filtradora de estos organismos que incorporan los probióticos al ser agregados al medio de cultivo (Hadiroseyani & Sutanti, 2013; Jamali et al., 2015).

5.5.5 Uso de probióticos comerciales en la producción de larvas de camarón

blanco (*L. vannamei*)

La producción de larvas de camarón es una de las fases más importantes, debido a que es considerada como el pilar principal para el proceso de producción de camarón blanco tanto a nivel local como mundial. Sin embargo, esta fase de producción es muy susceptible a enfermedades bacterianas, que causan altas tasas de mortalidad en el cultivo al igual que pérdidas económicas (Morales-Covarrubias, 2008).

Diversos estudios han demostrado los efectos positivos en el hospedero como en el medio del cultivo con la aplicación de probióticos. En la actualidad existe una gran variedad de cepas probióticas disponibles, y cada una de estas bacterias, pueden reaccionar de diferente manera según el medio de cultivo, ambiente o tipo de

organismo (Aguayo, 2006). No obstante, las bacterias que han sido usadas con éxito como probiótico, pertenecen al género *Bacillus* spp., y a las bacterias ácido lácticas (Nayak, 2010; Hai, 2015). A continuación, se da a conocer probióticos aislados y comerciales utilizados en el cultivo de camarón blanco (Tabla 3):

Tabla 3. Probióticos aislados y comerciales utilizados en larvicultura del camarón blanco (*L. vannamei*) y sus principales efectos.

Estadio	Especie probiótico	Administración	Efectos benéficos	Referencia
Larva y postlarva	<i>Bacillus</i> spp. (Sanolife® MIC)	Adición al agua o cultivo de microalgas	Mejora la supervivencia y el crecimiento, disminuye la carga de <i>Vibrio</i> spp.	(Silva et al., 2012)
Postlarva	<i>Bacillus subtilis</i>	Aditivo alimenticio	Mejora la supervivencia y estimula el crecimiento (PP, GP y AED)	(Zokaeifar et al., 2012)
Postlarva	<i>Bacillus subtilis</i>	Adición al agua	Mejora la calidad del agua (reducción de amonio, nitrito y nitrato) y estimula el crecimiento (PP, GP, VEC, RCA y AED)	(Zokaeifar et al., 2014)
Postlarva	<i>Arthrobacter</i> sp.	Adición al agua	Mejora la supervivencia, la velocidad de crecimiento y el estado inmunológico	(Xia et al., 2014)
Larva	<i>Bacillus</i> spp. (aislados)	Adición al agua	Mejora la supervivencia y la velocidad de crecimiento	(Luis-Villasenor et al., 2011)
Larva	Producto comercial Epicin®	Adición al agua	Mejora las condiciones de cultivo evitando la acumulación de residuos	(Luis-Villasenor et al., 2011)

			orgánicos en los estanques de cultivo.	
Postlarva	<i>Psychrobacter</i> sp.	Adición al agua	Mejora la supervivencia, estimula el crecimiento (PP y longitud) y el sistema inmune	(Franco et al., 2016a)
Larva y postlarva	<i>Bacillus licheniformis</i> y EPICIN 3W (comercial)	Adición al agua	Estimula el crecimiento (PP y longitud) y el sistema inmune	(Franco et al., 2016b)
Larva y postlarva	Producto comercial (<i>Bacillus</i> sp., <i>S. cerevisiae</i> , <i>Nitrobacter</i> sp., <i>Nitrosomonas</i> sp.)	Adición al agua	Reducción de las concentraciones de nitrógeno y fósforo, y control bacteriano	(Wang et al., 2005)
Postlarva	Producto comercial (<i>Rhodopseudomonas palustris</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> y <i>S. cerevisiae</i>)	Adición al agua	Mejora la supervivencia, estimula el crecimiento (VEC, RCA) y reduce el tiempo de producción, mejora la calidad del agua	(Melgar Valdés et al., 2013)
Postlarva	<i>Lactobacillus</i> spp.	Aditivo alimenticio	Mejora la supervivencia y estimula el sistema inmune	(Maeda et al., 2013)
Postlarva	<i>Bacillus subtilis</i>	Aditivo alimenticio	Mejora la supervivencia y estimula el sistema inmune	(Liu et al., 2014)
Postlarva	<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>B. subtilis</i> subsp. (aislados)	Aditivo alimenticio	Actividad antiviral, mejora la supervivencia, estimula el crecimiento y el sistema inmune	(Sánchez-Ortiz et al., 2016)
Larva	Producto comercial (<i>Pediococcus Acidilactici</i> – Perfostim)	Aditivo alimenticio	Control de <i>Vibrio alginolyticus</i>	(Villamil et al., 2003)

Larva y postlarva	Producto comercial (<i>S. cerevisiae</i> , <i>S. exigus</i> , <i>Phaffia rodzoma</i>)	Premezcla con alimento	Inmunoestimulación y protección contra <i>V. harvey</i>	(Aguirre et al., 2012)
-------------------	--	------------------------	---	------------------------

GP: ganancia de peso; AED: actividad enzimática digestiva; PP: incremento del peso promedio; VEC: velocidad específica de crecimiento; RCA: razón de conversión

Fuente: Toledo et al., 2018; Kumar et al., 2016

5.5.6 Utilización del género *Bacillus* como probiótico e influencia en los indicadores productivos

El género *Bacillus* contiene algunas de las bacterias utilizadas como probióticos por la industria acuícola (Ziaei-Nejad et al., 2006; Moriarty, 1998; Moriarty, 1999), esto debido a que se ha demostrado que secretan muchas exoenzimas (Liu et al., 2009; Ochoa-Solano & Olmos-Soto, 2006), que ayudan a mejorar la digestión, absorción del alimento y la calidad del agua del cultivo, la inclusión de estas bacterias grampositivas en los diferentes estadios larvales ha mostrado mejorar el crecimiento y la supervivencia de los organismos mediante la actividad antagónica, secreción de enzimas digestivas, eliminación de desechos orgánicos y producción de muchos nutrientes suplementarios como biotina, vitamina B12, algunos ácidos grasos (Liu et al., 2009, Rengpipat et al., 2003, Wang, 2007, Zhou et al., 2009; Verschuere et al., 2000; Farzanfar, 2006; Xue et al., 2016).

A continuación, se da a conocer algunas características que presenta el género *Bacillus* al ser utilizado como probiótico (Figura 6).

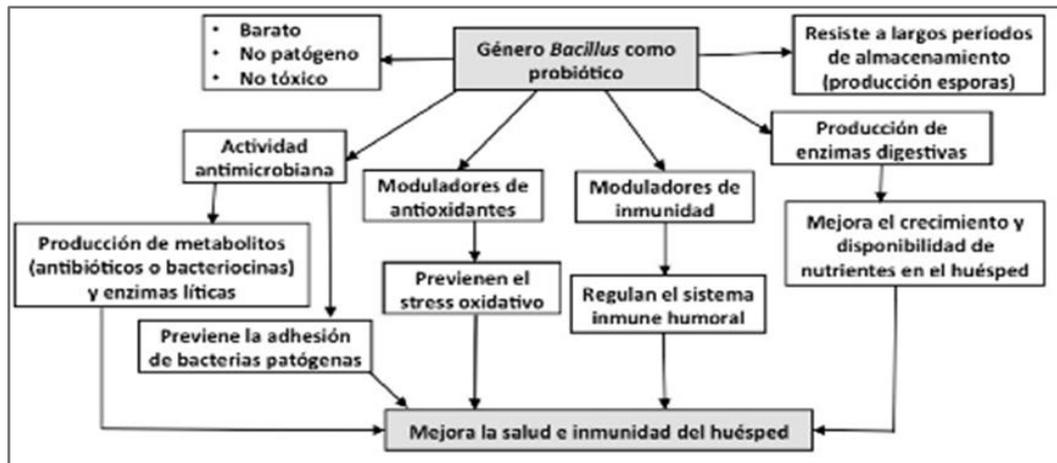


Figura 6. Características que presenta el género *Bacillus* para ser utilizado como probiótico en acuicultura.

Fuente: Kuebutornye et al., 2019 citado en Pérez-Chabela et al., 2020

Si bien la utilización de estas cepas probióticas trae consigo varios efectos benéficos en la producción de larvas y postlarvas de *L. vannamei* (Tabla 3), hoy en día existe en comercio una gran variedad de productos comerciales que contienen una cepa o multicepas de bacterias dirigidas para la inclusión en la dieta del organismo, la mayoría de estos productos contiene descripciones de sus posibles efectos, sobre el organismo y/o sobre la calidad del agua. No obstante, en las diferentes condiciones de cultivo su eficacia del probiótico puede cambiar, dada la influencia de diferentes factores como la ingestión selectiva (Priour, 1981; Riquelme et al., 2000) y la muerte en el tracto intestinal causada por la incapacidad del probiótico de mantener su fisiología bajo

condiciones físicas y químicas que se presentan en el tracto intestinal del hospedero (Tinh et al., 2007).

Algunos investigadores han analizado los efectos de los probióticos comerciales en camaronicultura, y algunos han obtenido como resultado tanto efectos positivos como efectos negativos en los parámetros productivos, principalmente en crecimiento y la tasa de supervivencia, por ejemplo:

a. Decamp et al. (2008), utilizaron un probiótico comercial de una mezcla de cepas específicas de *Bacillus* spp. (SANOLIFE MIC), para estudiar la inhibición de las cepas de *Vibrio* en larvicultura de camarón, los resultados mostraron que el probiótico fue capaz de inhibir el crecimiento de *Vibrio* dando como resultado una mejor tasa de supervivencia de las larvas de camarón.

b. Shariff et al. (2001) encontraron que el tratamiento con un probiótico comercial que contenía *Bacillus* spp., bacteria oxidante de nitrito, bajo número de bacterias oxidantes de amoníaco y una levadura, *Saccharomyces* sp., no aumentó significativamente la supervivencia ni mejoro la calidad del agua del tanque de camarones.

c. Melgar Valdes et al. (2013), obtuvieron que la aplicación de un probiótico comercial (*Rhodopseudomonas palustris*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* y *Saccharomyces cerevisiae*) mejoró los parámetros de producción de *L.*

vannamei, así como la calidad del agua del estanque en condiciones de cultivo intensivo.

d. Dennis et al. (2000), utilizaron un suplemento bacteriano comercial para cultivar *L. vannamei* en tanques al aire libre sin intercambio de agua. Este estudio no mejoró la tasa de supervivencia de los camarones, el peso final, el FCR, o la calidad del agua del tanque de camarones.

e. Sapcharoen y Rengpipat (2013), obtuvieron buenos resultados en el crecimiento, supervivencia y mejor de la respuesta inmune en el camarón *L. vannamei* con la utilización de *Bacillus subtilis*. De ahí que se requiera la comprobación de la eficacia de los productos comerciales a escala productiva, así como la determinación de la dosis óptima y su modo de empleo.

6. MARCO METODOLÓGICO

6.1 Área de estudio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en un Laboratorio de Larvas que se encuentra ubicado en la comuna San Pablo del cantón Santa Elena, perteneciente a la provincia de Santa Elena – Ecuador, vía del Pacífico ruta del Spondylus con las siguientes coordenadas $2^{\circ}09'05''\text{S}$ $80^{\circ}43'32''\text{W}$ (Figura 7).

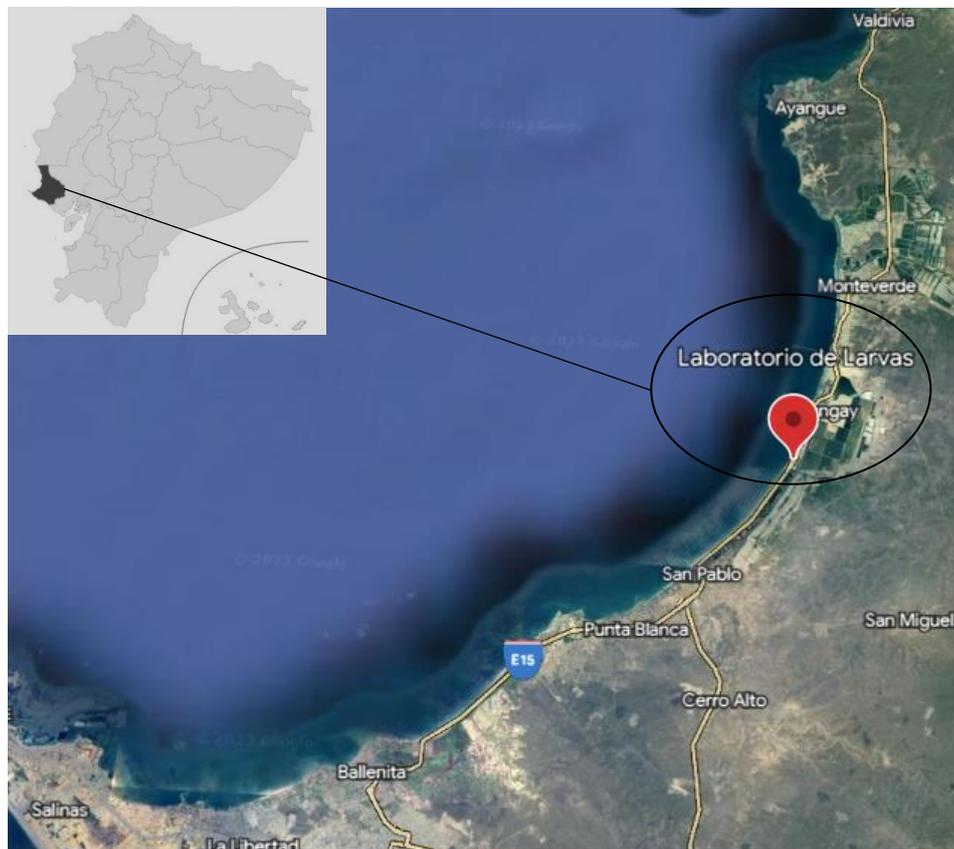


Figura 7. Geolocalización del área de estudio, comuna San Pablo provincia de Santa Elena.

Fuente: Modificado de Google Earth, 2022

Este estudio se realizó entre los meses de mayo y septiembre, donde la fase de capacitación de manejo y protocolos empleados en el Laboratorio de larvas comprendió el mes de mayo y, la fase experimental el resto de los meses mencionados.

6.2 Enfoque y tipo de investigación

El diseño metodológico planteado para el desarrollo de este estudio fue dentro del enfoque cuantitativo. El alcance del correspondiente estudio fue de tipo experimental puesto a que los niveles de la variable dosificación de los dos probióticos (variable independiente), fueron determinados y manejados para analizar el efecto sobre el desarrollo de los parámetros productivos y estado sanitario de larvas de camarón blanco *L. vannamei* (variables dependientes), a su vez este estudio adopto el diseño de una investigación de carácter descriptivo, experimental y explicativo.

6.3 Productos experimentales empleados

6.3.1 Probiótico A:

Este es un probiótico concentrado de diferentes especies de *Bacillus* spp. utilizado para trabajar en beneficio del tracto intestinal del hospedero; además, su integrado de calcio ayuda a la formación y endurecimiento del nuevo exoesqueleto, así como también de vitamina C que es un estimulante de crecimiento y un antiestresante dentro del cultivo.

Características y ventajas:

- Aumenta la supervivencia y la tasa de conversión alimenticia,

- Mejora la digestión del hospedero como la absorción de nutrientes,
- Fortalece el sistema inmunológico y ayuda a promover el crecimiento.

6.3.2. Probiótico B:

Este probiótico ayuda a mejorar los parámetros zootécnicos como inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos en el tracto intestinal debido a su mezcla de *Bacillus* spp., Betaglucanos, MOS, Levaduras y complejos Enzimáticos.

Características y ventajas:

- Ayuda al crecimiento y sobrevivencia,
- Incrementa la tasa de conversión alimenticia y actúa como modulador de la micro-biota,
- Atrapa micotoxinas y mejora la biomasa del cultivo.

6.4 Características de las unidades experimentales

Para la ubicación de los tratamientos se utilizaron 6 tanques rectangulares de concreto por cada ciclo larvario, cubiertos con una geomembrana negra, con las siguientes dimensiones; 12.54 metros de largo x 1.82 metros de ancho y 1.40 metros de profundidad, con capacidad máxima operativa de 30 toneladas métricas. Los muros laterales de división entre los tanques de producción fueron de 1.73 metros.

6.5 Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente aleatorio. Los 6 tanques por cada ciclo de producción estuvieron divididos para los 3 tratamientos que fueron: Probiótico A, Probiótico B y Control (2 réplicas por tratamiento), a continuación, se indica la descripción de cada tratamiento (Tabla 4):

Tabla 4. Descripción de los tratamientos y composición de los probióticos.

<i>Tratamiento</i>	<i>Nombre del probiótico</i>	<i>Identificación del tratamiento</i>	<i>Composición</i>
<p><i>Sin adición de probióticos en la dieta:</i> <i>Este se manejó de acuerdo con el protocolo utilizado dentro del módulo (en el medio).</i></p>	Sin probiótico	T1 (Control)	-
<p><i>Dieta + probiótico comercial A:</i> <i>Este consistió en aplicar diariamente el probiótico comercial desde Zoea 1 hasta la cosecha.</i></p>	Probiótico comercial A	T2	<i>Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis, Bacillus pumilus, 2.0 x 10¹¹ UFC/kg, calcio y vitamina C.</i>
<p><i>Dieta + probiótico comercial B:</i> <i>Este probiótico comercial se aplicó en la dieta desde Zoea 1 hasta la cosecha.</i></p>	Probiótico comercial B	T3	<i>Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis, 4.0 x 10¹⁴ UFC/g, Betaglucanos 6,0%, MOS 6,0%, Levaduras 5% y complejos Enzimáticos 0,5%.</i>

6.6 Siembra y población de estudio

El manejo de las larvas de los tratamientos durante la siembra y el desarrollo larval, se lo efectuó en iguales condiciones de limpieza, desinfección, recepción y nutrición tanto para control como para los tratamientos, protocolo de manejo detallado en el Anexo 1. Cabe destacar que la única diferencia fue que en los tratamientos 2 y 3 se dosificó en la dieta con el probiótico A y probiótico B como único tratamiento para controlar e inhibir patógenos en el tracto intestinal, mejorar la supervivencia y crecimiento durante la producción. En el experimento los nauplios en el sub-estadio nauplio 5 de *L. vannamei* fueron suministrados por el laboratorio TEXCUMAR, estos se distribuyeron de manera aleatoria en los 6 tanques de producción, se usaron 2 tanques para cada tratamiento los mismos que se encontraron con la siguiente densidad de siembra y población (Tabla 5):

Tabla 5. Ciclos de producción, réplica, densidad de siembra y población en cada tratamiento.

Ciclo	Réplica	Control		Tratamiento 2		Tratamiento 3	
		Densid. (N/L)	Población	Densid. (N/L)	Población	Densid. (N/L)	Población
1	1	93	2 334 000	133	3 333 000	106	2 667 000
	2	93	2 334 000	133	3 333 000	106	2 667 000
2	1	106	2 667 000	133	3 333 000	133	3 333 000
	2	106	2 667 000	133	3 333 000	133	3 333 000
3	1	120	3 000 000	133	3 334 000	130	3 260 000
	2	120	3 000 000	133	3 334 000	130	3 260 000
4	1	106	2 667 000	188	4 700 000	168	4 222 000
	2	106	2 667 000	188	4 700 000	168	4 222 000

6.7 Proceso de activación de los probióticos

Probiótico A: Este probiótico comercial no se requiere de su activación.

Probiótico B: Para su activación consistió en pesar la cantidad requerida del producto según cada estadio larvario (Tabla 6) e inocular en un sustrato a base de azúcar morena y agua dulce, manteniéndose en fermentación en un tanque cónico negro durante 24 horas a temperatura ambiente sin aireación. Este proceso se realizó cada día durante la producción (Figura 8).



Figura 8. Activación del Probiótico B.

6.8 Dosificación de los probióticos

La dosificación considerada para esta investigación se realizó con dosis que a menudo se utilizan dentro del cultivo de larvas de camarón además por recomendaciones técnicas de las empresas de producción de estos productos. La inclusión de los probióticos fue proporcionada según cada estadio larvario y administrada directamente en el alimento balanceado. Cada dieta formulada fue hidratada con agua 1 hora antes de suministrarle cada tanque, evitando el contacto directo de la mezcla con la luz solar. Cabe recalcar que antes de la inclusión del probiótico B en la dieta del camarón se

tamizo (Figura 9). En los 4 ciclos de producción los tratamientos 2 y 3 la dosificación se realizó desde Zoea 1 y Zoea 2 con una sola aplicación al día, desde Zoea 3 hasta Postlarva 12 se dividió para colocar una dosis a las 12:00 pm y la otra a las 00:00 am (Tabla 6).

Tabla 6. Dosificación de los probióticos.

Ciclo	T 1 (Control)	Tratamiento 2 Probiótico A		Tratamiento 3 Probiótico B	
		Estadío	Dosis (ppm/ton)	Estadío	Dosis (ppm/ton)
1	Testigo	Zoea 1	2	Zoea 1	2
2		Zoea 2	2	Zoea 2	2
3		Zoea 3	4	Zoea 3	4
4		M1 – M3	4	M1 – M3	4
		PL 1- PL 12	9	PL 1- PL 12	6

6.9 Parámetros físico – químicos del agua

Se tomó los siguientes parámetros con sus respectivos equipos:

- Temperatura: 4 veces al día (Oxigenómetro)
- Oxígeno disuelto: 2 vez al día (Oxigenómetro)
- Salinidad: 4 veces al día (Salinómetro digital)
- pH: 2 vez al día (pHmetro digital).

Los datos fueron registrados en un formato de campo (08h00; 12h00; 18h00; 00h00) a excepción del oxígeno disuelto y pH que se registró a las 08h00 y 14h00 durante los días de producción.

6.10 Variables Productivas

6.10.1 Crecimiento

La estimación del crecimiento se realizó de acorde al estadio larvario:

- **El método volumétrico (Conteo Zoea, Mysis y Postlarva):**

Este método se utilizó para Zoea, Mysis y Postlarva 1.

Este consistió en tomar 4 muestras (250 ml cada una) en cuatro distintos puntos del tanque, con un total de 1 litro de muestra. Posteriormente se procedió a contar cada larva de la muestra, el resultado se multiplico por el volumen de agua que se encontraba en el tanque. Con este cálculo se obtuvo un valor estimado de la población, además en base a este valor obtenido se realizó el análisis de supervivencia de cada tratamiento para los primeros estadios.

- **El método Gravimétrico (Conteo de Postlarvas):**

Se manejó este método desde Postlarva 4.

Este consistió en pescar la larva alrededor del tanque con la ayuda de un chayo, se escurrió el exceso de agua de la muestra pescada y se tomó muestras desde 0,40 gr para postlarva 4; 0,50 gr para postlarva 5 y así sucesivamente hasta

llegar al peso de 1 gramo, se contabilizó el número de postlarvas presentes en la misma y se dividió entre la cantidad pesada, obteniendo así el PL/gr. En base a este valor se pudo notar el crecimiento diario.

$$\text{PL/g} = \frac{\text{Conteo de postlarva (PL)}}{\text{Cantidad pesada (g)}}$$

- **Peso promedio, longitud promedio y uniformidad:**

Este parámetro se determinó desde postlarva 4, para obtener el peso promedio se realizó de forma manual, este consistió en pesar una muestra de 1000 miligramos de cada tratamiento y dividirlo para el número de organismos presentes en dicha muestra. Para la obtención de longitud promedio y uniformidad se determinó mediante el programa LARVIA, programa que alcanza una precisión del 99%.

6.10.2 Tasa supervivencia (%)

El registro de la supervivencia real se determinó hasta el final del cultivo con la siguiente fórmula (Saldarriaga & Briones, 2005 citada en Soriano, 2017):

$$S = \frac{\text{Poblacion al muestreo}}{\text{Poblacion inicial}} \times 100$$

Dónde:

S = supervivencia (%)

6.10.3 Biomasa

Con objeto de determinar la biomasa para cualquier tiempo, se utilizó la siguiente fórmula (Saldarriaga & Briones 2005 citada en Soriano, 2017):

$$B = \frac{\text{PIL} \times \text{Conteo}}{1 \text{ g}} \times 0,001 \text{ kg}$$

Dónde:

B = Biomasa (kg)

PIL = peso promedio de la postlarva (g)

Conteo = Cantidad de postlarvas presentes en el tanque.

6.10.4 Conversión alimenticia

El factor de conversión alimenticia se determinó al final de cada ciclo. Esta variable representa la eficiencia que el alimento posee para producir una unidad de peso del camarón, considerando que entre más alto es el factor de conversión alimenticia menos eficiente es el alimento (Arias Cango & Morán Arellano, 2020).

Para ello se utilizó la siguiente fórmula (Saldarriaga, y Briones, 2005 citada en Soriano, 2017):

$$\text{F. C. A final} = \frac{\text{Alimento consumido (kg)}}{\text{Biomasa cosechada (kg)}}$$

6.11 Estado sanitario de *Litopenaeus vannamei*

Este análisis microbiológico tuvo como objetivo determinar la presencia de *Vibrios*, utilizando como medio de cultivo Agar TCBS y Agar Chromagar Vibrio. Este proceso se realizó bajo el protocolo que se utiliza en el laboratorio de microbiología que se encuentra dentro de la misma empresa. El total de muestras analizadas fueron de 192 muestras, 48 muestras por ciclo larvario, 16 muestras por tratamiento (réplica 1 y 2) de los estadíos Zoea (II y III), Mysis (I y II) y de postlarva (III, IV, V y IX). A continuación, se detalla los procedimientos utilizados para la preparación de los medios de cultivo, inoculación de la muestra y método de identificación de colonias:

Preparación de los medios de cultivo para *Vibrios*:

- **Agar TCBS:**

Para su preparación se pesó 17.80 gramos de agar TCBS y se colocó en una fiola de 200 ml de agua destilada esterilizada, esto se homogenizó lentamente, seguidamente se calentó hasta su punto de ebullición.

Después se dejó enfriar y se distribuyó en placas Petri estériles (20 ml/caja).

- **Agar Chromagar *Vibrio*:**

Se pesó 14.94 gramos de agar Chromagar *Vibrio* y se colocó en una fiola de 200 ml de agua destilada esterilizada, esto se homogenizó hasta que el agar se haya espesado bien, seguidamente se calentó hasta su punto de ebullición

agitando regularmente. Después se dejó enfriar y antes que se solidifique se distribuyó en placas Petri estériles (20 ml/caja).

Inoculación de las muestras:

La siembra de las muestras se realizó siguiendo la metodología tradicional, empleando diluciones seriadas en una relación 1:10 con solución salina al 2% de NaCl. Las muestras se filtraron por una malla donde el micraje vario de acuerdo con el estadio, cada muestra se desinfecto con agua destilada. Luego se pesó 1 gramo de la muestra en los estadios de postlarvas y para los estadios como Zoea y Mysis en cantidades de 0.5 gramos o su aproximado, esta muestra se colocó en un microtubo eppendorf previamente tratado para ser macerado.

Después la muestra macerada se puso a centrifugar por 10 segundos. Posteriormente se efectuó la siembra por el método de extensión (barrido) con asa de vidrio (asa de Drygalski) colocando 100 µl de la dilución en su respectiva caja Petri con Agar TCBS y agar Chromagar *Vibrio*. Todas las placas se incubaron en posición invertida a 33 °C por 24 horas para su posterior conteo.

Método de identificación de colonias:

- **Agar TCBS:** Se identificó mediante la observación de las características de las colonias, estos se presentan en colonias amarillas y colonias verdes.

- **Agar Chromagar *Vibrio*:** Diferenciación de microorganismos de acuerdo con la coloración que presenta cada colonia.

V. parahaemolyticus (Malva – violeta)

V. vulnificus/ *V. cholerae* (Azul verdoso a azul turquesa)

V. alginolyticus (Crema).

Estimación de las unidades formadoras de colonias (UFC):

Se efectuó el conteo en unidades formadoras de colonias por mililitro, de la siguiente manera:

UFC/mL = Numero de colonias x factor de dilución / mililitros de la muestra.

El grado de dilución de la muestra fue de gran importancia debido a que un exceso de dilución podría ocasionar la falta de crecimiento de colonias. Por ello se siguió recomendaciones metodológicas donde la mejor dilución es aquella que permite que se obtengan entre 30 y 300 colonias por placa (Alonson-Urmeneta et al., 2000; Moreno, 2002). Los análisis bacteriológicos fueron determinados por rangos de valores establecidos, según análisis estadísticos del departamento de microbiología y resultados de producción (Tabla 7).

Tabla 7. Valores de severidad de UFC en larvas y Postlarvas de camarón

Medio de cultivo	Colonias	Rango de Valores		
		Normales	Elevado	Severo
TCBS	Tipo 1 (Amarillas)	$\leq 10^2$	$> 10^3$	$> 10^5$
TCBS	Tipo 2 (Verdes)	$\leq 10^2$	$> 10^3$	$> 10^5$
Chromagar <i>Vibrio</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	$\leq 10^1$	$> 10^2$	$> 10^3$
Chromagar <i>Vibrio</i>	<i>V. vulnificus</i>	$\leq 10^1$	$> 10^1$	$> 10^2$
Chromagar <i>Vibrio</i>	<i>V. alginolyticus</i>	$\leq 10^2$	$> 10^3$	$> 10^4$

6.11.1. Observación en fresco de *L. Vannamei*

Para este análisis de patología en fresco se basó básicamente en la observación con un microscopio de las características externas. Todos los días se evaluó el estado de salud de las larvas de cada tratamiento, se tomó en consideración los siguientes aspectos:

- Actividad del organismo
- Branquias (presencia o ausencia de suciedad, necrosis)
- Apariencia del intestino (lleno, medio o vacío)
- Estado físico de las antenas (Coloración o rotas)
- Deformidad (Rostro, abdomen o apéndices)
- Apariencia de Urópodos (Coloración)
- Exoesqueleto (presencia o ausencia de necrosis)
- Hepatopáncreas (Tamaño y coloración)

6.12 Análisis estadístico

Todos los parámetros fueron registrados en hojas de cálculo Excel. Se determinó la normalidad de los datos obtenidos de cada tratamiento utilizando una prueba de Anderson – Darling. Así mismo, se realizaron pruebas de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene y de Bartlett). Además, para comparar las medias en los diferentes tratamientos en los distintos ciclos de producción se aplicó ANOVA de una vía, con $p > 0,05$ como valor de significancia y un test a posteriori de Tukey. Todas las pruebas estadísticas se realizaron usando el programa MINITAB versión 19.0.

7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Se realizaron 2 diferentes tratamientos basados en la inclusión del probiótico A y probiótico B en la dieta diaria de las larvas de camarón *L. vannamei* durante cuatro ciclos de producción, las cuales los tres primeros ciclos de 17 días y de 19 días el último ciclo. Los tratamientos aplicados permitieron dar los siguientes resultados:

7.1 Análisis de los parámetros físicos – químicos

Los valores obtenidos de los análisis correspondientes se registraron conforme pasaban los diferentes estadios larvales (Nauplio V, Zoea, Mysis y Postlarva).

7.1.1 Salinidad

Los datos de salinidad en el cultivo de larvas *L. vannamei* durante la investigación se observa en la figura 9, donde para los cuatro ciclos de producción al inicio de la experimentación (nauplio V) los valores correspondieron a un promedio de 32.0 ± 0.05 UPS para control, 32.0 ± 0.00 UPS tratamiento 2 y 32 ± 0.04 UPS en tratamiento 3. Se evidencio el valor de salinidad máxima en el estadio de Mysis con 32.9 ± 0.16 UPS para control, 32.9 ± 0.19 tratamiento 2 y tratamiento 3 con 32.8 ± 0.24 UPS, mientras que el valor de salinidad mínima se observó en el tratamiento 3 (R2 – ciclo1) en el estadio de postlarva con 31.5 UPS y con un promedio de 32.4 ± 0.37 UPS.

Los valores obtenidos durante los diferentes estadios no presentaron grandes variaciones entre los tratamientos manteniéndose entre los rangos permisibles. Bermudes – Lizárraga et al. (2017), comentan que la salinidad optima en el crecimiento en las primeras etapas del camarón *L. vannamei* se mantengan los cultivos en los intervalos de 25-35 UPS.

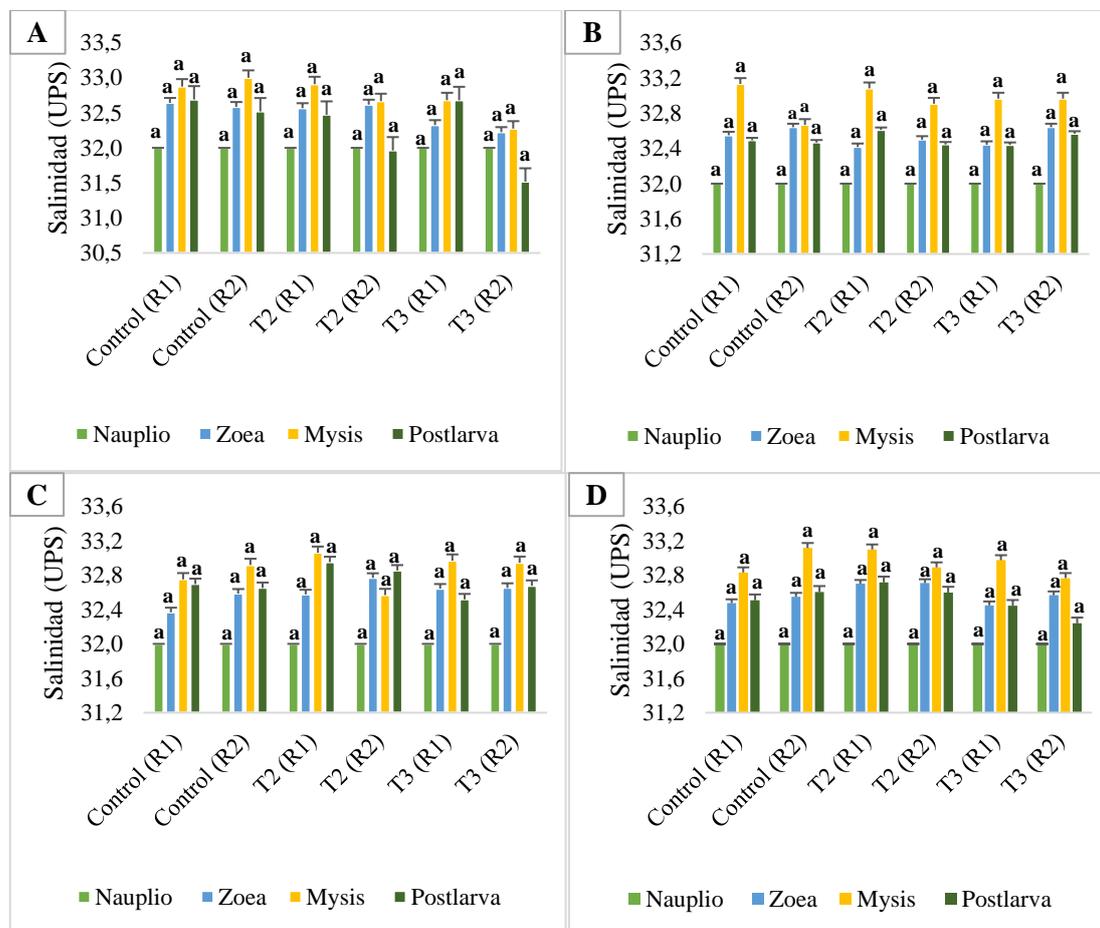
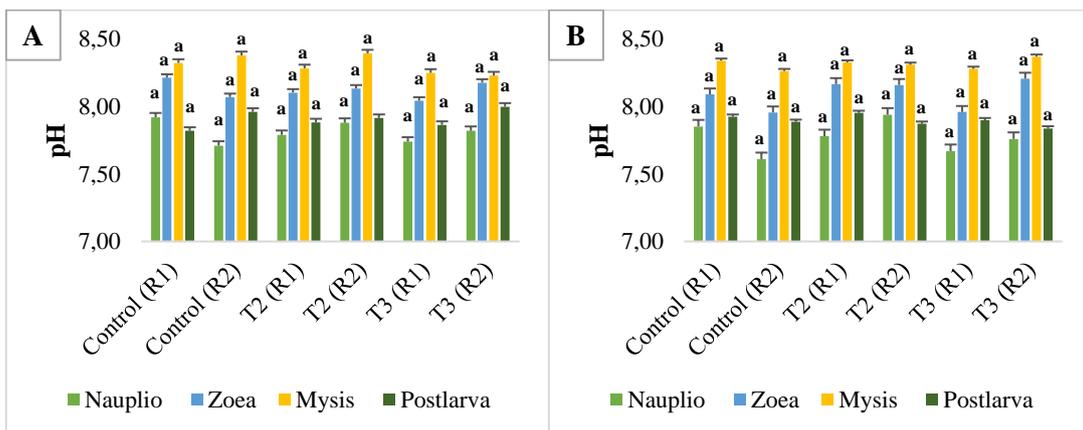


Figura 9. Valores promedio de salinidad de los tratamientos y control durante el estudio A) Ciclo 1; B) Ciclo 2; C) Ciclo 3; D) Ciclo 4. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.1.2 pH

Durante los 4 ciclos de producción el rango de pH del agua de los tratamientos, control y sus respectivas réplicas, se ubicó entre 8.45 y 7.61 con un promedio de 8.02 ± 0.23 control, 8.03 ± 0.23 tratamiento 2 y 8.03 ± 0.22 tratamiento 3. Resultando valores dentro del rango permisible, Fenucci (1988), manifiesta que los valores de 7 a 9 en el agua está considerada como apta para el cultivo del camarón mientras Kubitza (2017), indica que bajo estos rangos presentan mejores resultados de producción ya que estos valores coinciden con el pH de su hemolinfa.

En la figura 10 se observa que el valor de pH máximo se obtuvo en el estadio de Mysis, llegando a valores promedio de 8.33 ± 0.05 en control, 8.35 ± 0.06 T2 y 8.29 ± 0.05 en T3.



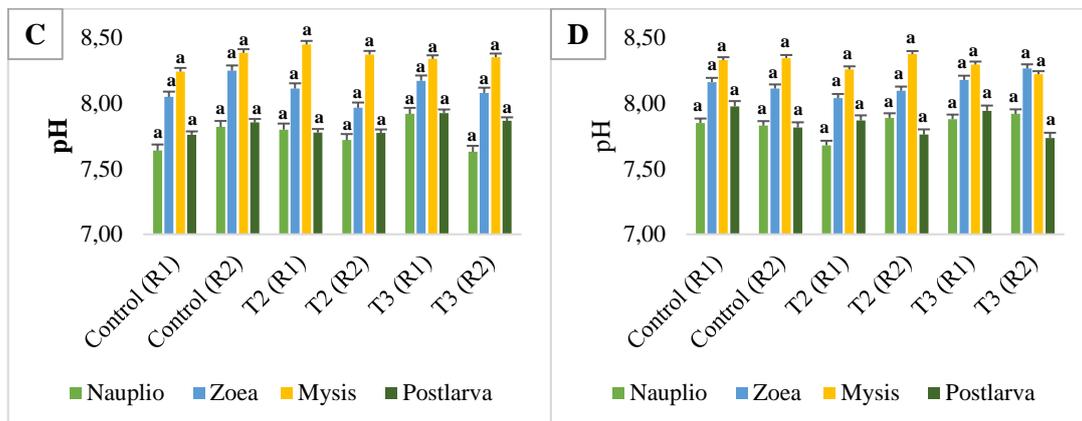


Figura 10. Valores promedios de pH de los tratamientos y control durante la investigación A) Ciclo 1; B) Ciclo 2; C) Ciclo 3; D) Ciclo 4. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.1.3 Oxígeno Disuelto

Durante la investigación en el cultivo de larvas *L. vannamei* el rango de concentración de OD en los tratamientos como para control y sus réplicas, se ubicó entre 5.76 mg/L y 3.69 mg/L con un promedio en control de 4.90 ± 0.35 mg/L, 4.97 ± 0.44 mg/L tratamiento 2 y 5.01 ± 0.38 mg/L tratamiento 3.

Se observa en la figura 11 que en el estadio Mysis presentó una gran disminución de concentración de OD en los tratamientos y control, siendo, el valor mínimo de este parámetro en el ciclo 2 con el T2 con un valor promedio de 3.92 ± 0.32 mg/L. En este aspecto, Cuéllar- Anjel. (2010) menciona que en el cultivo del camarón requiere

concentraciones de OD mayor a 3 mg/L y óptimamente alrededor de 4 mg/L a 12 mg/L para un crecimiento adecuado.

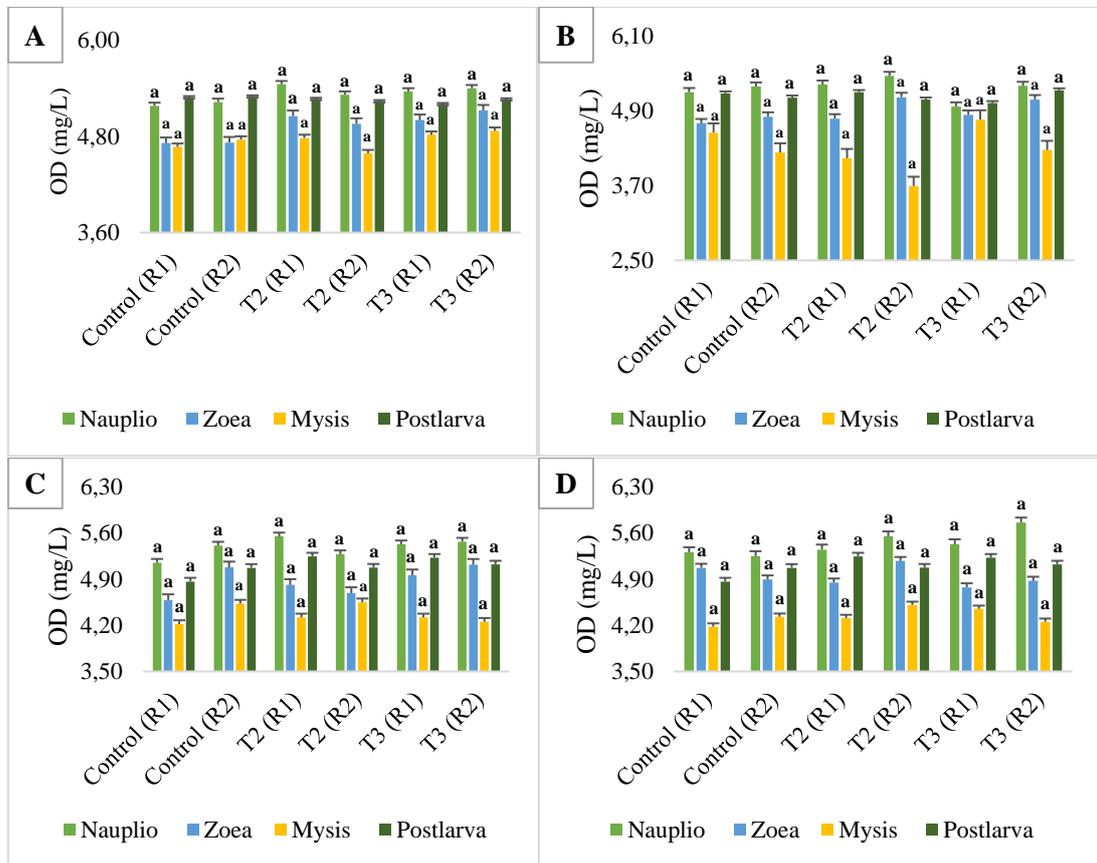


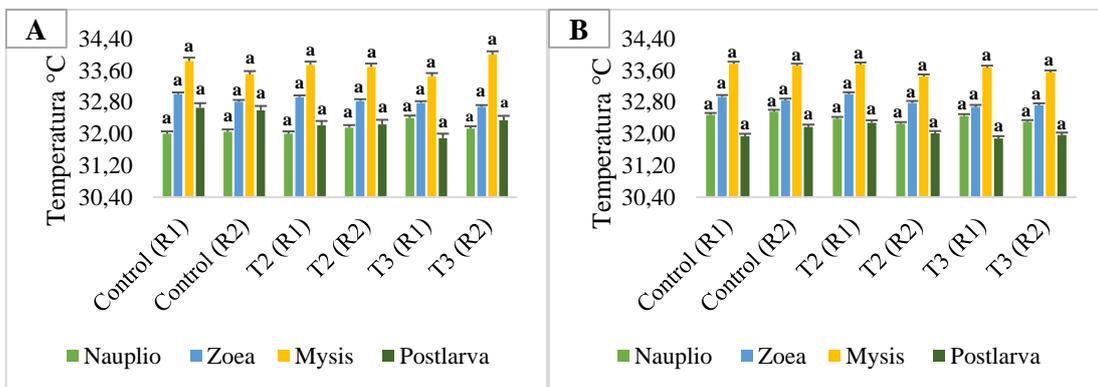
Figura 11. Fluctuaciones de OD registrados en los diferentes estadios larvales de los tratamientos y control A) Ciclo 1; B) Ciclo 2; C) Ciclo 3; D) Ciclo 4. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.1.4 Temperatura

Los valores de temperatura en el cultivo de larvas *L. vannamei* durante la investigación se observa en la figura 12, donde el rango de temperatura en los tratamientos, control y sus respectivas réplicas, se ubicó entre 34.06 °C y 31.61 °C con un promedio de

32.75 ± 0.74 °C en control, 32.78 ± 0.70 °C tratamiento 2 y con 32.72 ± 0.69 °C en tratamiento 3.

En este aspecto, Bermudes – Lizárraga et al. (2017) menciona que durante el cultivo de larvas de camarón se mantengan en los intervalos de temperatura de 30-35°C ya que valores mayores o mínimos a dichos rangos pueden dificultar el crecimiento del organismo, de tal manera que, para un mejor rendimiento del cultivo se mantuvo controlado el ambiente, regulando la temperatura en los diferentes estadíos, con 32 a 32.5 °C en el estadio Nauplio, 32.5 °C – 33.5 °C en el estadio Zoea, 33.5 °C – 34 °C estadio Mysis y en el estadio de postlarva con un máximo de 33 °C con un mínimo de 32 °C.



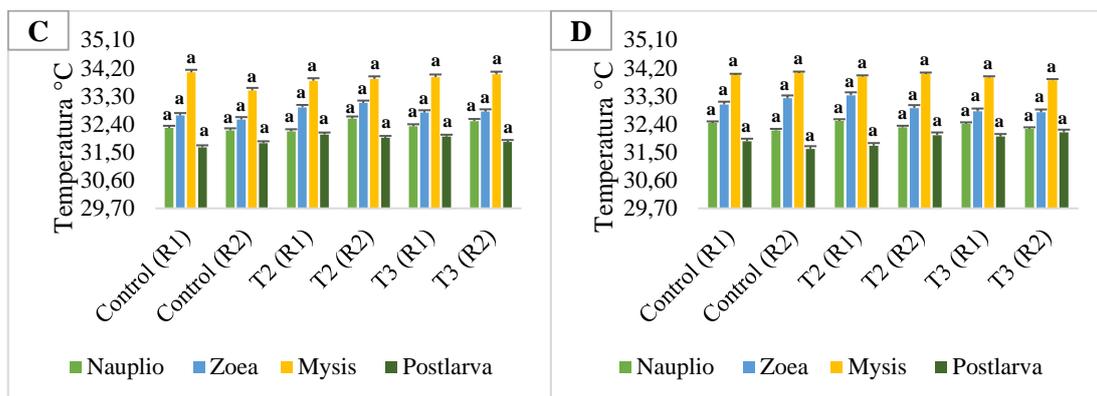


Figura 12. Valores promedio de temperatura obtenidos en los diferentes estadios larvales con los tratamientos A) Ciclo 1; B) Ciclo 2; C) Ciclo 3; D) Ciclo 4. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.2 Desarrollo de los parámetros de crecimiento de las larvas *L. vannamei* con los probióticos comerciales aplicados.

7.2.1 Crecimiento de acuerdo con cada tratamiento en larvas por gramo (PL/g)

El resultado final de larvas por gramo de cada ciclo con los tratamientos aplicados se observa en la figura 13, donde el valor final del PL/g de los cuatro ciclos de producción realizados correspondieron a un promedio de 215 PL/g en control, 217 PL/g tratamiento 2 y con 196 PL/g en tratamiento 3. Se evidencio un mayor crecimiento en el primer ciclo en el tratamiento 3 (R2) con 170 larvas por gramo al igual que en el ciclo 2 con 210 PL/g y en el ciclo 4 con 190 PL/g, el menor crecimiento se observó en el ciclo 1 en el tratamiento 2 (R1) con 250 PL/g y con 260 PL/g en control (R1) en el ciclo 4.

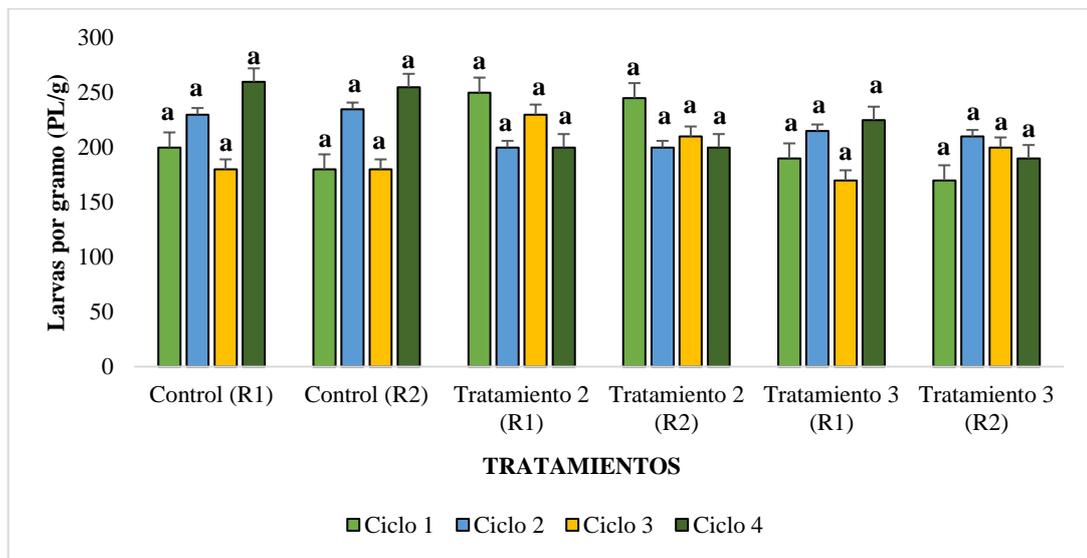


Figura 13. Larvas por gramo (PL/g) por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.2.2 Peso promedio

El peso promedio final de las larvas *L. vannamei* en PL 10 (ciclo 1, ciclo 2, ciclo 3) y PL 12 (ciclo 4) con la aplicación de los tratamientos se observa en la figura 14, donde el valor máximo correspondió al tratamiento 3 (R1 y R2) en el ciclo 1 y ciclo 3 con 5.9 mg, mientras que el valor mínimo en el ciclo 4 fue en control (R1) con 3.8 mg y 3.9 mg en control (R2). Teniendo como peso promedio de 4.8 mg en control, 4.7 mg tratamiento 2 y con 5.2 mg en tratamiento 3 durante los cuatro ciclos de producción.

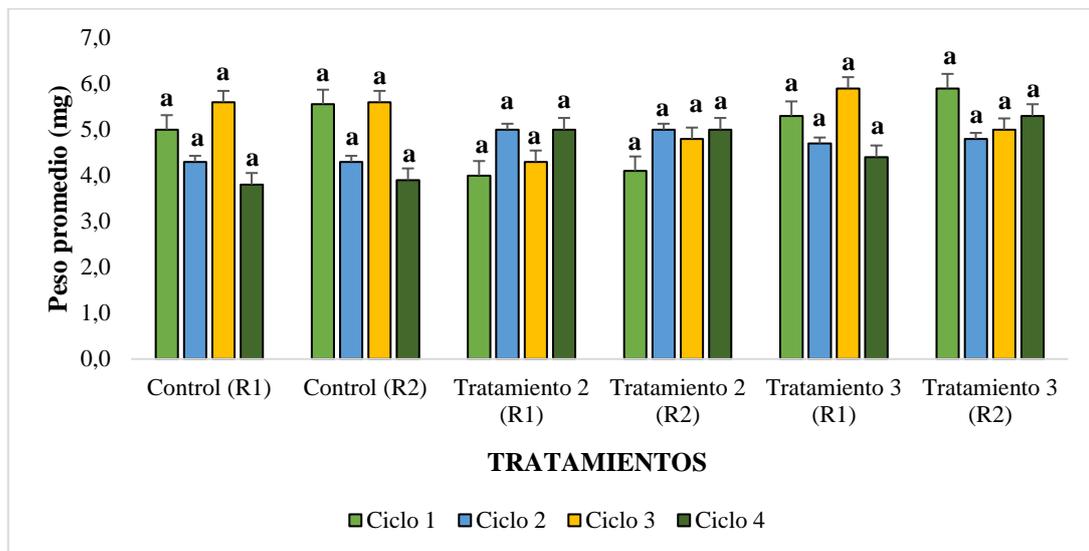


Figura 14. Peso promedio de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.2.3 Longitud promedio

La longitud promedio final de las larvas *L. vannamei* en PL 10 (ciclo 1, ciclo 2, ciclo 3) y PL 12 (ciclo 4) con la aplicación de los tratamientos se observa en la figura 15, donde el valor máximo en el ciclo 1 se presentó en el tratamiento 3 (R2) con 8.8 mm y el mínimo en el tratamiento 2 (R2) con un valor de 7.7 mm, en el ciclo 2 el valor máximo en el tratamiento 3 (R2) con 8.4 mm y el mínimo en control (R1) con 7.9 mm, mientras que en el ciclo 3 correspondió el valor máximo al tratamiento 3 (R1) con 8.9 mm y el mínimo en el tratamiento 2 (R1) con 7.8 mm y en el ciclo 4 con un valor máximo de 8.6 mm en el tratamiento 3 (R2) y el mínimo en control (R1) con 7.5 mm. Teniendo como longitud promedio final de las larvas *L. vannamei* de 8.2 mm en control, 8.0 mm en T2 y 8.5 mm en el T3 durante los cuatro ciclos de producción.

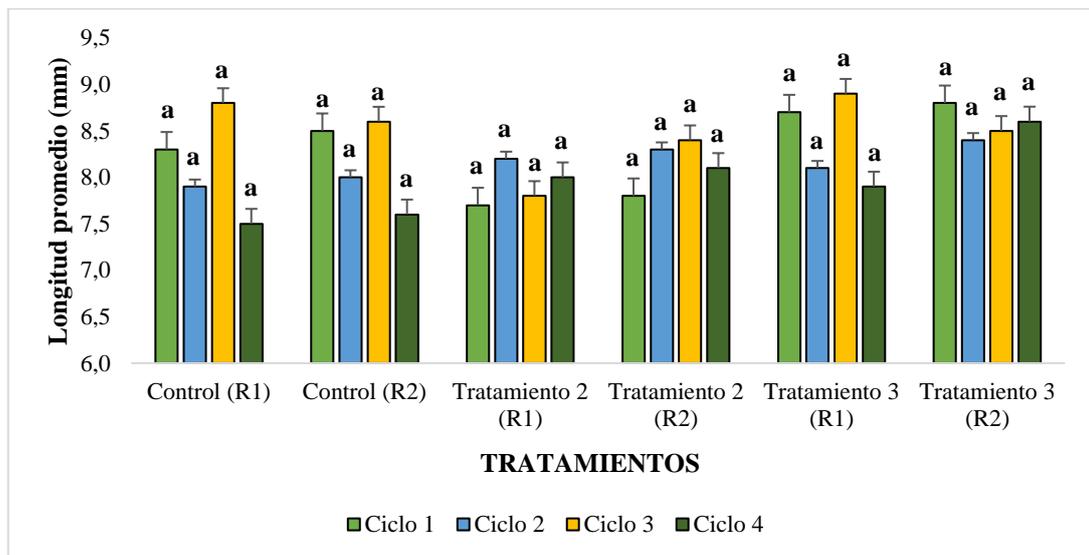


Figura 15. Longitud promedio de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.2.4 Uniformidad

El % de uniformidad final de larvas *L. vannamei* en PL 10 (ciclo 1, ciclo 2, ciclo 3) y PL 12 (ciclo 4) con la aplicación de los tratamientos se observa la figura 16, donde el valor máximo en el ciclo 1 correspondió a control (R1) con 80% y el mínimo en tratamiento 3 (R2) con 69 %, en el ciclo 2 el valor máximo en tratamiento 2 (R1) con 82 % y mínimo en tratamiento 3 (R1) con 72 % mientras que en el ciclo 3 el valor máximo en control (R2) con 74 % y mínimo en control (R1) con 67%, en el ciclo 4 el valor máximo fue en el tratamiento 3 (R2) con 79% de uniformidad y mínimo en control (R2) con 66 %. Teniendo como porcentaje de uniformidad promedio de 73 % en control, 74 % tratamiento 2 y en tratamiento 3 con 73% durante los cuatro ciclos de producción.

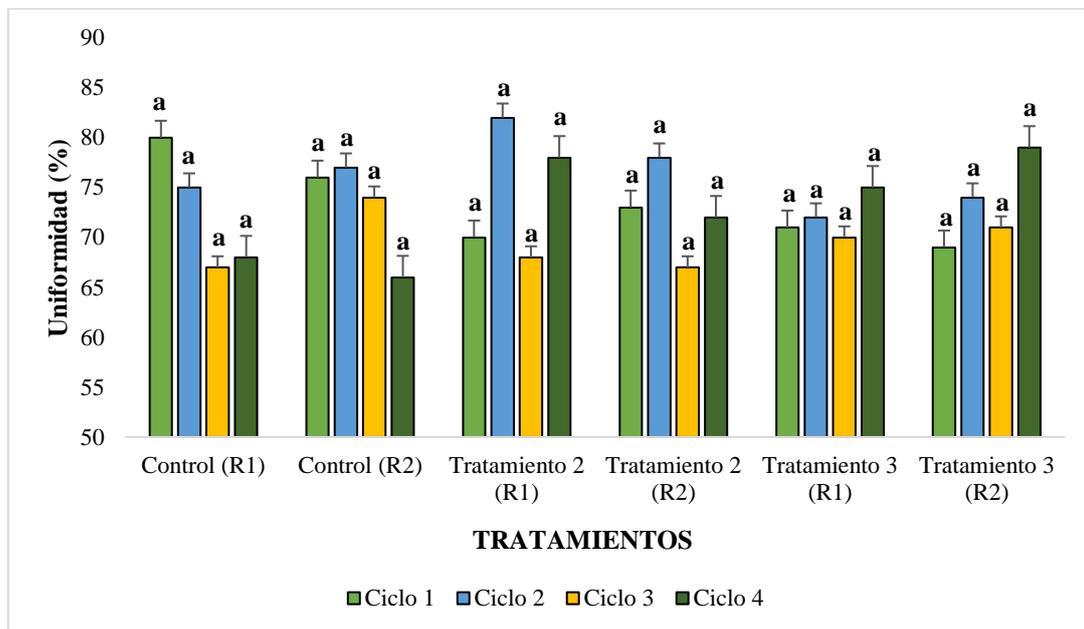


Figura 16. Porcentaje de uniformidad de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.3 Biomasa

La biomasa final de larvas *L. vannamei* en PL 10 (ciclo 1, ciclo 2, ciclo 3) y PL 12 (ciclo 4) con la aplicación de los tratamientos se observa en la figura 17, donde los valores máximos correspondieron al ciclo 4 en el tratamiento 3 (R2) con 16.43 kg y con 16.14 kg en el tratamiento 2 (R1), mientras que los valores mínimos se presentaron en el mismo ciclo con 5.59 kg en control (R1) y 6.42 kg en control (R2). Teniendo como biomasa promedio de 8.43 en control, 11.16 kg en tratamiento 2 y en tratamiento 3 con 12,01 kg durante los cuatro ciclos de producción.

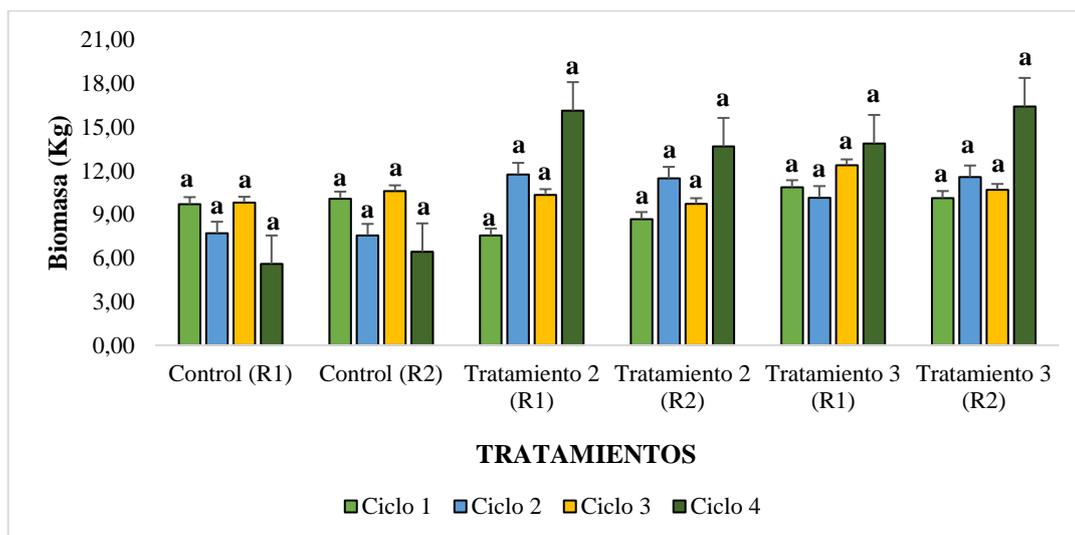


Figura 17. Biomasa final de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos y control. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.4 Conversión alimenticia

Con respecto al F.C.A final del cultivo de larvas *L. vannamei* con PL 10 (ciclo 1, ciclo 2, ciclo 3) y PL 12 (ciclo 4) se observa en la figura 18, donde en control (R1) se presentó el valor más bajo en el ciclo 3 con 0.69 y con el valor más alto de 0.84 en el ciclo 1, en el tratamiento 2 (R1) con 0.67 (ciclo 4) siendo el valor más bajo y con 0.84 en la R2 (ciclo 1) con el valor más alto, mientras que en el tratamiento 3 (R1) correspondió al valor más bajo en el ciclo 1 con 0.61 y con el valor más alto en la R2 (ciclo 3) con 0.72. Teniendo como F.C.A promedio de 0.76 en control, 0.72 tratamiento 2 y con 0.68 en el tratamiento 3 durante los cuatro ciclos de producción. De acuerdo con los resultados obtenidos en los tratamientos aplicados, podemos decir que los valores están en los intervalos permisibles, en este aspecto Talavera et al.

(1997), menciona que los valores del F.C.A óptimos para el crecimiento del camarón debería ser entre 0.6 - 1.0 en camarones de hasta 10 gramos de peso. Idealmente el F.C.A no debe ser mayor de 1.5, mientras menor sea el valor, más eficiente es el camarón en la utilización de alimentos para su crecimiento.

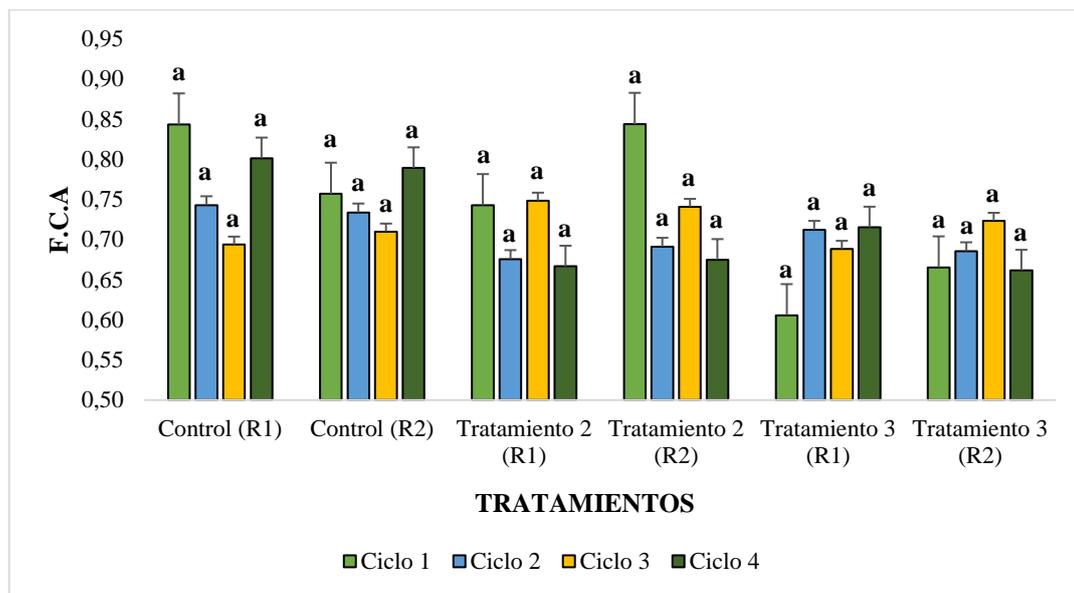


Figura 18. Comportamiento del factor de conversión alimenticia en los tratamientos y control durante los cuatro ciclos de producción. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.5 Supervivencia de larvas *L. vannamei* con los tratamientos aplicados

La supervivencia final de larvas *L. vannamei* en PL 10 (ciclo 1, ciclo 2 y ciclo 3) y PL 12 (ciclo 4) con la aplicación de los tratamientos se observa en la figura 19, donde se evidencia una mayor supervivencia en el tratamiento 3 (R1) con un 77% en el ciclo 1, seguido del tratamiento 3 (R2) con un 73 % en el ciclo 4 en comparación del

tratamiento 2 que su mayor supervivencia fue del 72 % en la R1 y con 69 % en la R2. Sin embargo, en control el ciclo 1 obtuvo una mayor supervivencia con 88% en R1 y 77% en R2, a diferencia que en el ciclo 4 presento una mayor mortalidad con relación al tratamiento 2 y 3, correspondiendo a R1 con 55 % y 62 % de supervivencia en R2. En el % de supervivencia promedio durante los cuatro ciclos de producción de estudio el valor máximo fue en el tratamiento 3 con 70%, tratamiento 2 con 65% y control con 66%, resultando ser más efectivo usar el probiótico B en la dieta diaria de los diferentes estadíos larvales del camarón.

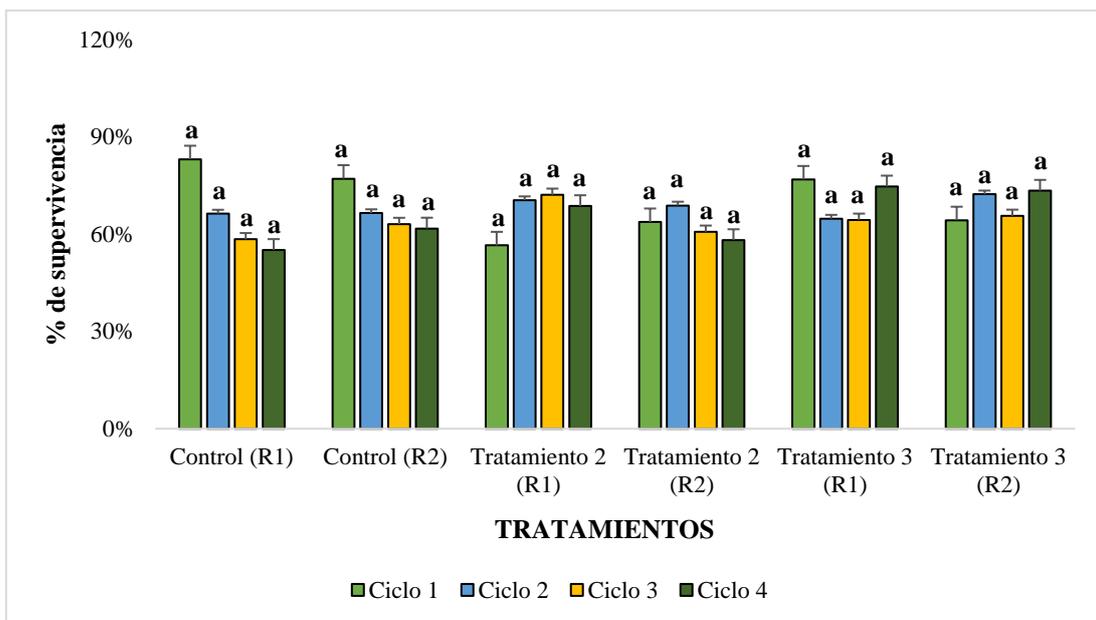


Figura 19. Porcentaje de supervivencia de larvas *L. vannamei* con los tratamientos suministrados durante los cuatro ciclos de producción. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.6 Análisis de la dinámica bacteriana de las larvas *L. vannamei* durante los cuatro ciclos de cultivo.

7.6.1 Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de larvas de camarón con la inclusión del probiótico A.

Los resultados de la carga bacteriana con la aplicación del tratamiento 2 durante los cuatro ciclos de producción se pueden observar la figura 20, donde en el estadio Zoea con las muestras procesadas se tuvo una variación bacteriana, en la R2 (ciclo 1, 3 y 4), los cuales las colonias amarillas tuvieron el máximo exponente siendo el dato más alto de $1.10E+04$, mientras que para las muestras de la R1 hubo una disminución de su exponente con $4.40E+03$ como el valor más bajo. En comparación con control el valor más bajo fue de $1.99E+03$ en la R2 (ciclo 1) y con el máximo exponente de $4.24E+04$ en la R1 (ciclo 3).

Para el caso de las colonias verdes en el tratamiento 2 se presentó valores de exponente a la tercera, con un promedio de $3.86E+03$ a diferencia de control que mostro como su máximo exponente en la R1 con $1.25E+04$.

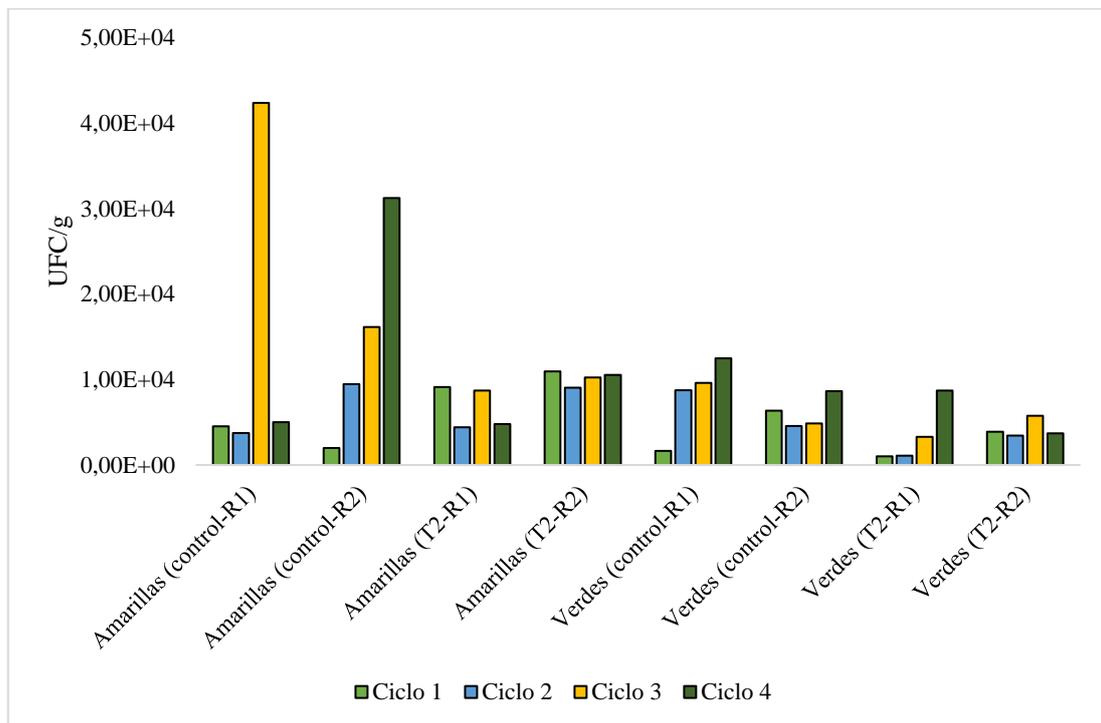


Figura 20. Dinámica de crecimiento de *Vibrios* (UFC/g) en el estadio de Zoea del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.

La identificación de *Vibrios* spp., durante el periodo de estudio se llevó a cabo a través de colorimetría proporcionada por el *Chromagar Vibrio* para determinar la especie.

En la figura 21 se puede observar el crecimiento de *Vibrios* spp., en el estadio Zoea del tratamiento 2, la especie de *V. parahaemolyticus* en el T2 R1 se obtuvo valores dentro de los rangos normales durante los cuatro ciclos de producción a diferencia en el T2 R2 donde hubo variaciones en el ciclo 2 y 3, siendo el dato más alto de $2.15E+02$. No obstante, en control en la R1 (ciclo 1) se presentó con una concentración más alta

con relación al tratamiento 2 siendo este de $4.90E+03$. Para el caso del *V. vulnificus* durante los cuatro ciclos de producción en el tratamiento 2 (R1 y R2) y control se reportó con el mínimo exponente sin embargo con el *V. alginolyticus* control y tratamiento 2 y sus réplicas se registraron con rangos elevados siendo el valor más alto de $1.53E+04$ en el T2 (R2) y en control (R2) con $1.72E+04$.

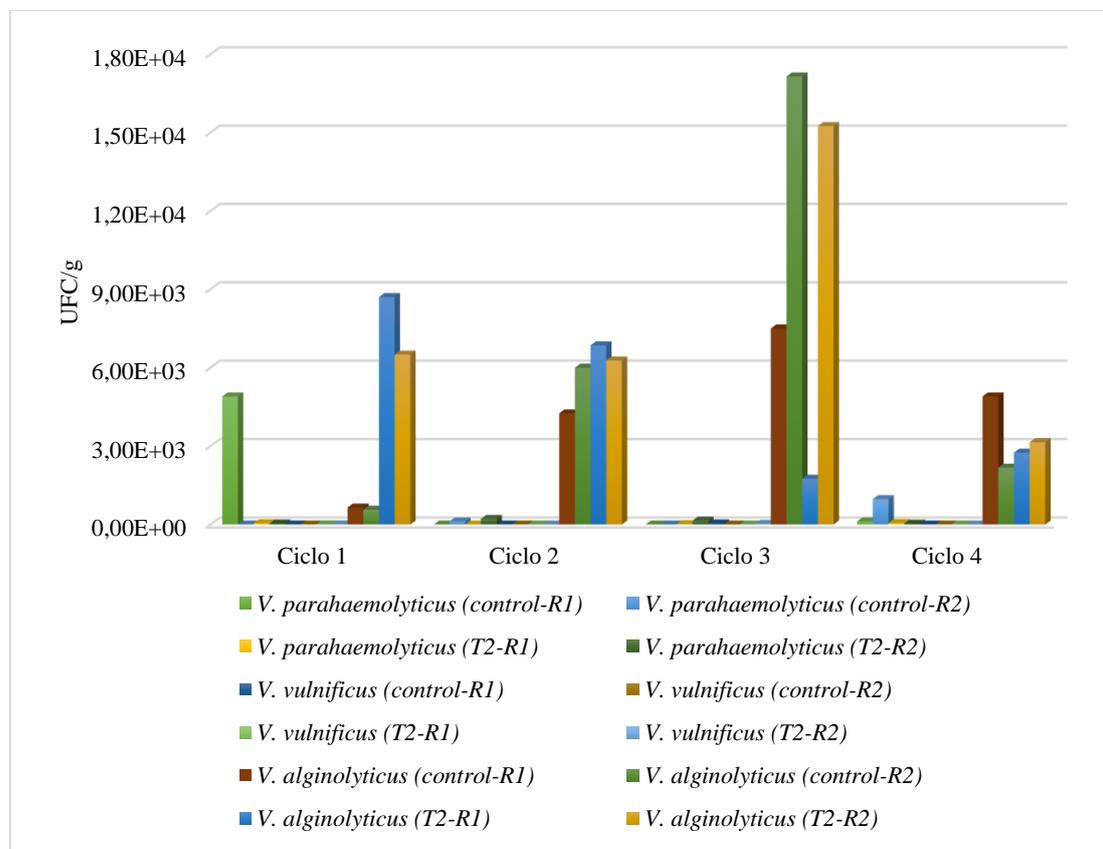


Figura 21. Dinámica de crecimiento de las especies de *Vibrios* spp. (UFC/g) en el estadio Zoea del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.

En la figura 22 se puede observar la carga bacteriana en el estadio Mysis con las muestras procesadas del tratamiento 2, las colonias amarillas presentaron poca

variación tal como se observa en la figura 22, donde el dato más alto para el T2 fue en la R2 (ciclo 2) con $2.51E+04$, mientras, control reporto un valor de $3.67E+04$ en la R1 (ciclo 4) y en la R2 (ciclo 2) con $3.22E+04$, siendo valores alto en relación con el tratamiento 2. Para el caso de las colonias verdes en el tratamiento 2 la concentración máxima se puede observar en la R1 (ciclo 1) con $1.06E+04$ mientras que en control la carga bacteriana máxima fue de $1.83E+04$ en R2 (ciclo 4).

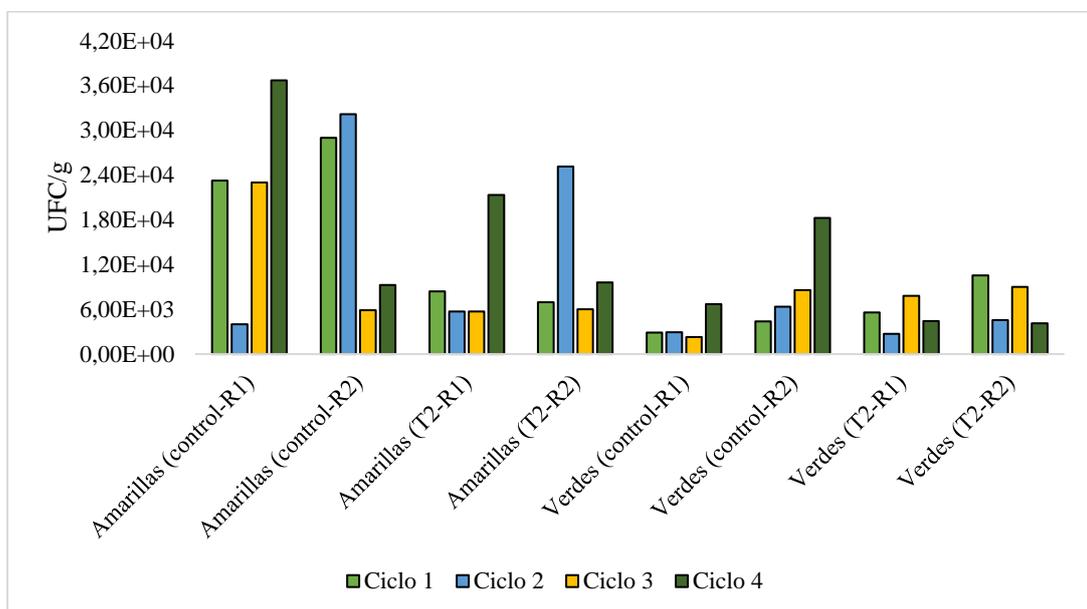


Figura 22. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio Mysis del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.

En la figura 23 se puede observar el crecimiento de *Vibrios* spp., en el estadio Mysis del tratamiento 2, la especie de *V. parahaemolyticus* en la R1 se registró valores dentro de los rangos normales durante los cuatro ciclos de producción a diferencia de la R2 (ciclo 3) donde se reportó una concentración más alta, con $2.87E+02$ al igual control

(R1- ciclo 3) con $4.12E+02$, resultando rangos elevados para larvas de *L. vannamei*. Para el caso del *V. vulnificus* durante los cuatro ciclos de producción en el tratamiento 2 (R1 y R2) y control no se presentó variaciones, manteniéndose dentro de los rangos normales. Por otra parte, con el *V. alginolyticus* control y tratamiento 2 y sus réplicas se registraron con rangos elevados, siendo el valor más alto de $2.23E+04$ en el T2 (R2 ciclo 4) y en control (R1 ciclo 4) con $1.19E+04$.

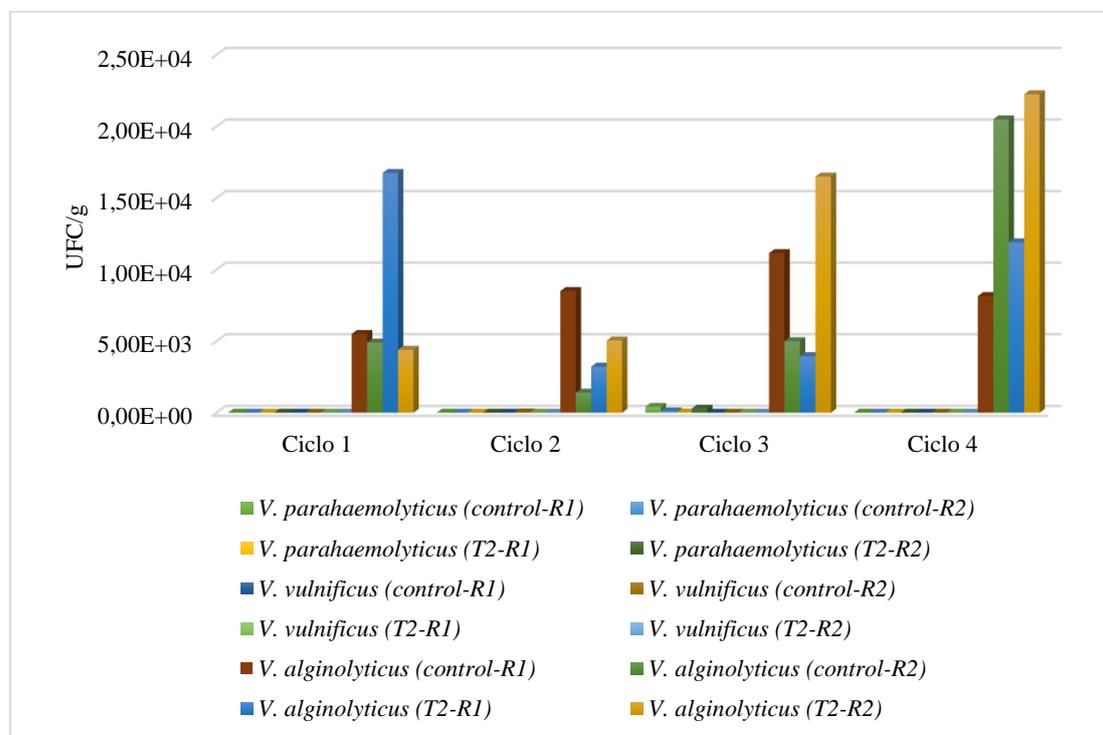


Figura 23. Dinámica de crecimiento de las especies de *Vibrios* spp. (UFC/g) en el estadio Mysis del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.

Los resultados del conteo bacteriológico para el estadio de postlarva del tratamiento 2 se puede observar la figura 24, donde se evidencia que todas las muestras tanto del T2 R1 y R2 como para control presentaron valores de exponente a la tercera para colonias

verdes, que en comparación del anterior estadio se demuestra una disminución de colonias verdes en el T2 (R1 ciclo 1) y en control (R2 ciclo 4).

En el caso de las colonias amarillas se reportaron cargas bacterianas altas en el tratamiento 2, siendo el valor más alto en la R1 (ciclo 1) con $1.49E+04$ y en la R2 (ciclo 1 y 4) con $1.13E+04$, al igual que control también presento valores de exponente a la cuarta siendo el valor máximo de $6.31E+04$ en la R1 (ciclo 4).

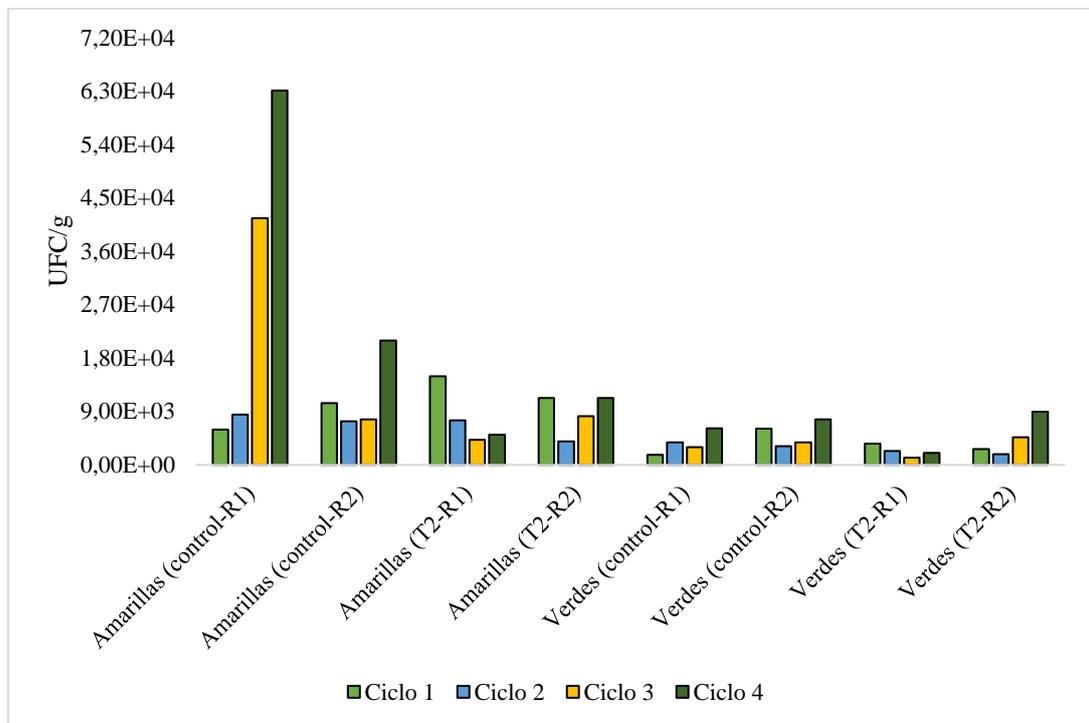


Figura 24. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio de postlarva del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.

Los resultados del crecimiento de las especies de *Vibrio* spp., en el estadio postlarva con el tratamiento 2 se puede observar la figura 25, donde en el T2 en el ciclo 2, 3 y 4

el *V. parahaemolyticus* se presentó dentro de los rangos normales para las dos replicas, sin embargo, en la (R1 ciclo 1) se registró el valor máximo de 5.23E+03, siendo el único valor fuera del rango normal en el tratamiento 2, mientras control en el ciclo 4 se obtuvo una alta concentración de esta especie con 7.40E+03 en la (R1) y 5.30E+03 en la R2 (ciclo 2).

Por otra parte, el crecimiento del *V. vulnificus* dentro del tratamiento 2 (R1 y R2) se mantuvieron dentro de los rangos aceptables para postlarvas de camarón a diferencia de control que hubo una gran variación, presentando como valor máximo de 2.95E+02 en la R1 (ciclo 4). Para el caso del *V. alginolyticus* en el tratamiento 2 (R1 y R2) reportaron valores de exponente a la tercera, sin embargo, control presento valores de exponente a la cuarto, siendo el valor más alto de 1.43E+04 en la R1 (ciclo 4).

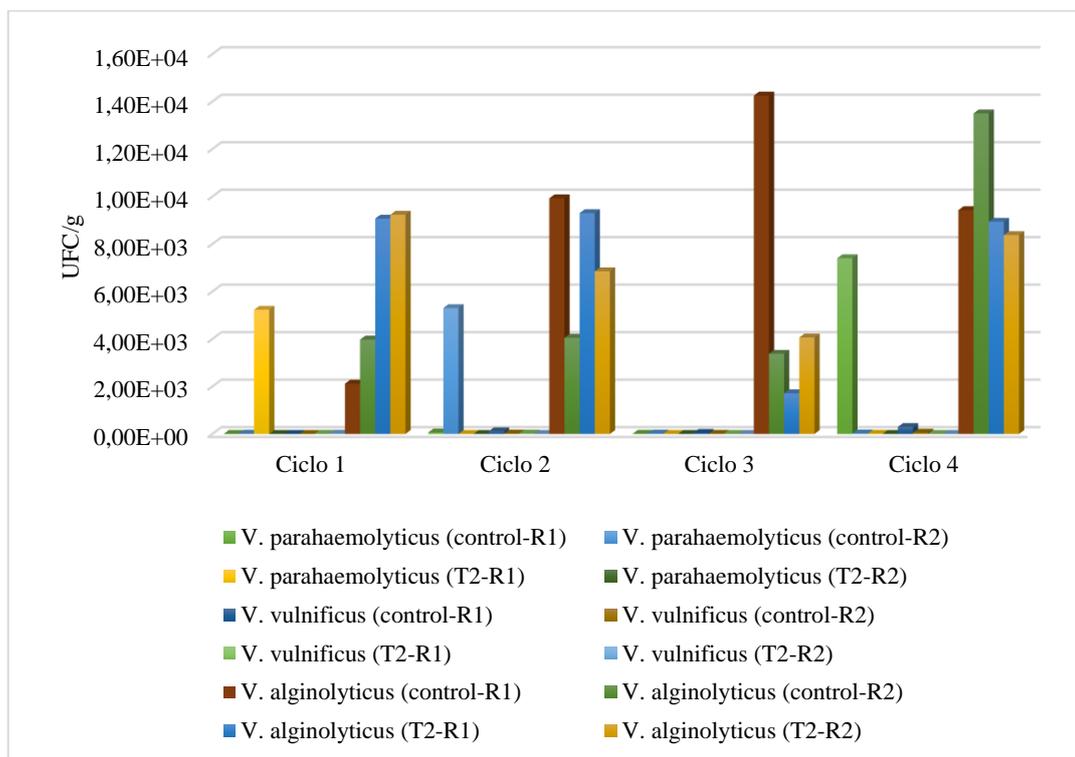


Figura 25. Dinámica de crecimiento de las especies de *Vibrios* spp. (UFC/g) en el estadio postlarva del tratamiento 2 y control durante los cuatro ciclos de producción.

7.6.2 Dinámica de crecimiento de *Vibrios* en muestras de larvas de camarón con la inclusión del probiótico B.

En el estadio Zoea los resultados de la carga bacteriana con la aplicación del tratamiento 3 durante los cuatro ciclos de producción se pueden observar en la figura 26, donde el crecimiento de colonias amarillas en el ciclo 2 y 3 se reportó valores de exponente a la cuarta tanto en el tratamiento 3 (R1 y R2), siendo la concentración más alta de $1.31E+04$, mientras que en el ciclo 1 y 4 se obtuvo valores con exponente a la tercera, no obstante control en comparación con el tratamiento presento una mayor

carga bacteria de colonias amarillas siendo el valor más alto de $4.24E+04$ en R1 (ciclo 3) y con un mínimo de $1.99E+03$ en la R2 (ciclo 1). Por otra parte, las colonias verdes en el tratamiento 3 (R1 y R2) durante los cuatro ciclos de producción se registraron valores con exponente a la tercera, con un valor mínimo de $1.27E+03$ en R2 (ciclo 1), sin embargo, en control se presentó la carga máxima de colonias verdes con $1.25E+04$ en R1 (ciclo 4).

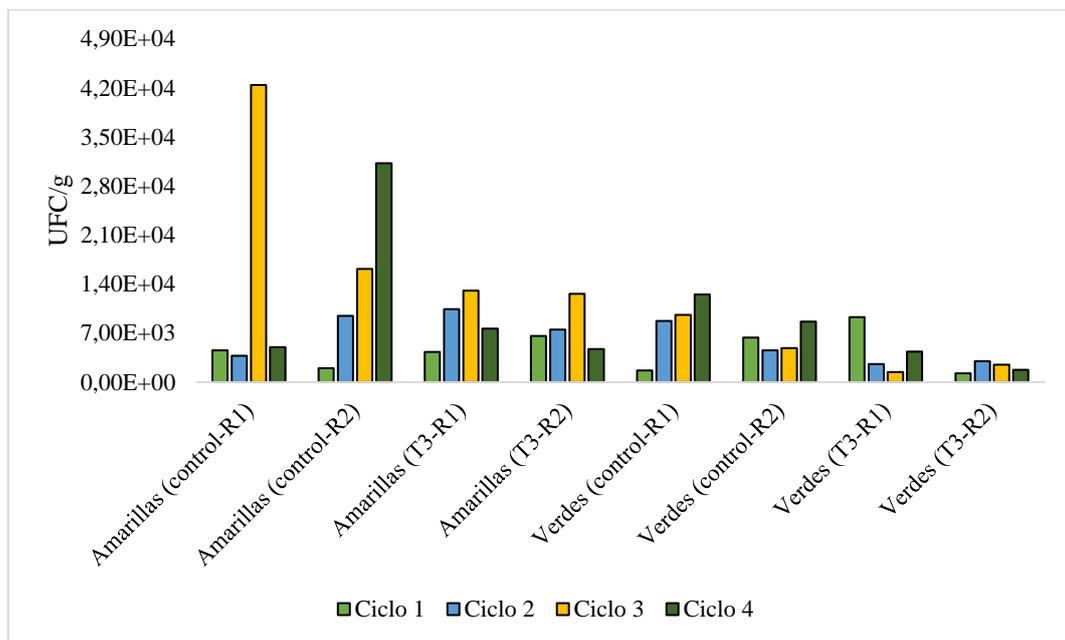


Figura 26. Dinámica de crecimiento de *Vibrios* (UFC/g) en el estadio de Zoea del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción.

En cuanto al crecimiento de especies de *Vibrios* spp., en el estadio Zoea con la aplicación del tratamiento 3 durante los cuatro ciclos de producción se puede observar en la figura 27, donde se registró una concentración alta de la especie de *V. parahaemolyticus* en el tratamiento 3 (R1) con $1.17E+02$ (ciclo 3) y la mínima concentración en la R2, siendo el dato más bajo en el ciclo 3 con $1.05E+01$, en

comparación con control esta también presentó en el ciclo 1 una concentración alta de $4.90E+03$ en R1 y $9.71E+02$ en la R2 (ciclo 4). Para el caso del *V. vulnificus* en el T3 (R1 y R2) se registraron con valores mínimos, siendo el dato más bajo de $2.50E+00$ en la R1 (ciclo 3). No obstante, en control en la R1 (ciclo 3) fue el único que mostro carga bacteriana de concentración $3.75E+01$ mientras en la R2 no presentaron crecimiento de esta especie durante la fase experimental. En el crecimiento del *V. alginolyticus* en el tratamiento 3 (R1 y R2) se reportaron valores de exponente a la cuarta con un máximo de $1.40E+04$ (ciclo 3) y en control en el mismo ciclo con un máximo de $1.72E+04$ en la R2.

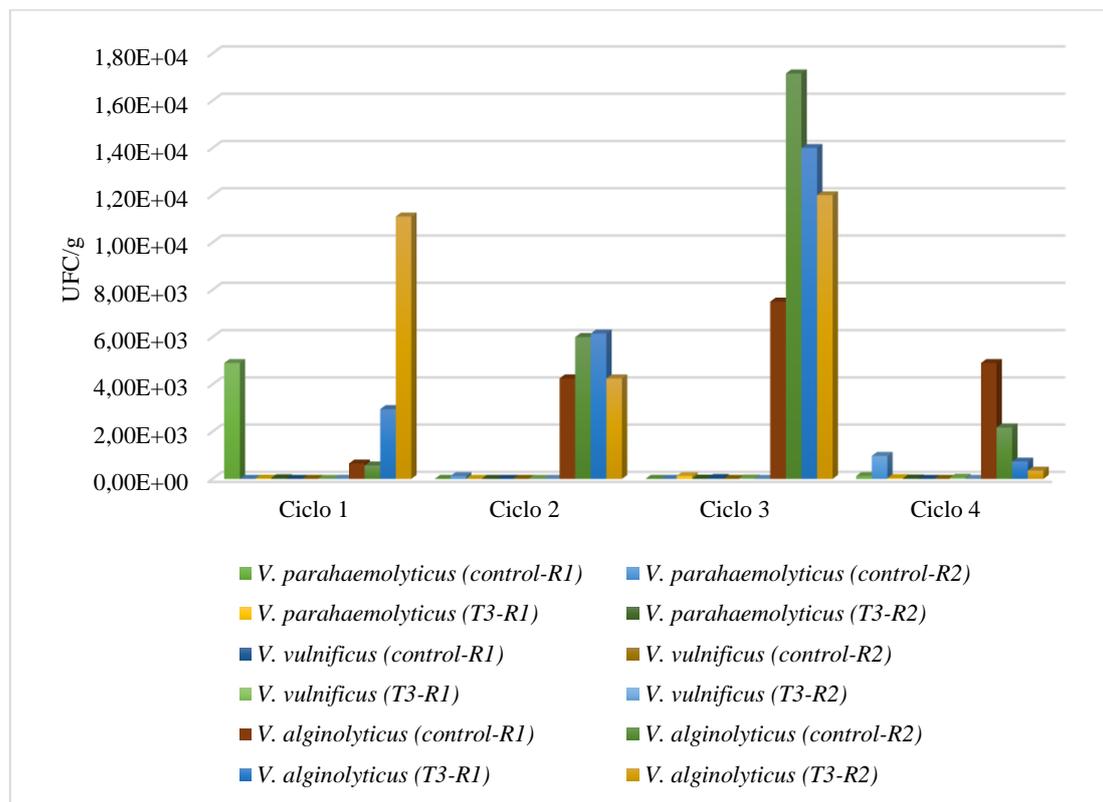


Figura 27. Dinámica de crecimiento de las especies de *Vibrios* spp. (UFC/g) en el estadio de Zoea del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción.

En el estadio Mysis los resultados de la carga bacteriana con la aplicación del tratamiento 3 durante los cuatro ciclos de producción se pueden observar en la figura 28, donde se reporta valores de exponente a la cuarta en la concentración de colonias amarillas, siendo el valor más alto de $2.17E+04$ en el tratamiento 3 R2 (ciclo 1) y con un mínimo de $4.20E+03$ en la R2 (ciclo 3), no obstante, control reporto un valor de $3.67E+04$ en la R1 (ciclo 4) y en la R2 (ciclo 2) con $3.22E+04$. Para el caso de las colonias verdes en el tratamiento 3 (R1 y R2) se obtuvieron valores de exponente a la tercera, con un mínimo de $1.19E+03$ en el ciclo 2 (R1), sin embargo, control en el ciclo 4 presento una alta concentración de colonias verdes, siendo este de $1.83E+04$ (R2) como su valor máximo.

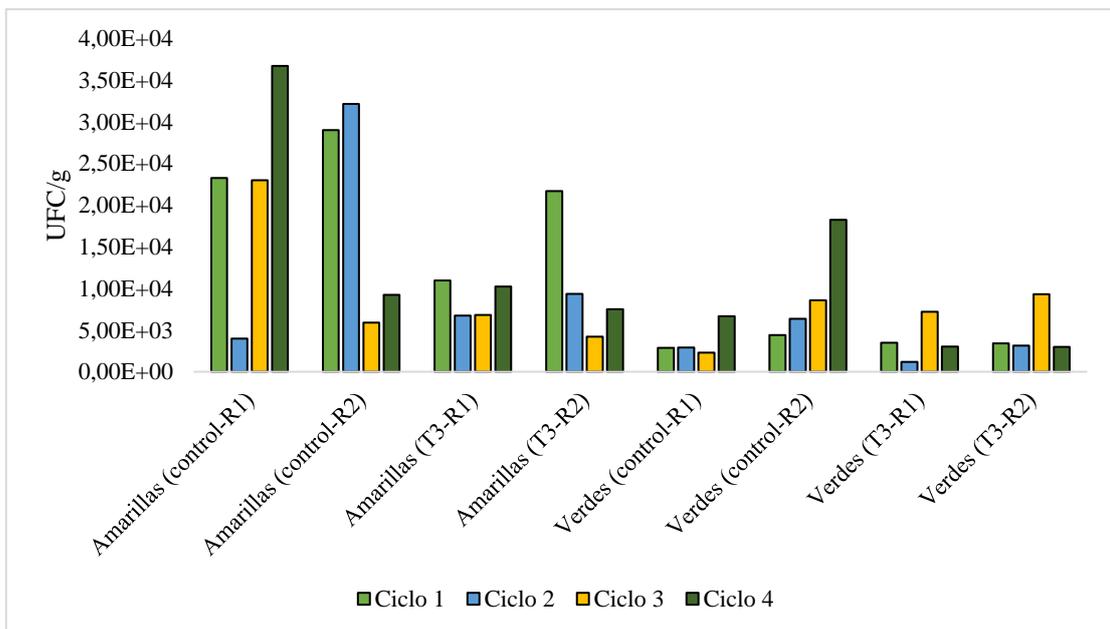


Figura 28. Dinámica de crecimiento de Vibrios (UFC/g) en el estadio de Mysis del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción.

El crecimiento de especies de *Vibrios* spp., en el estadio Mysis con la aplicación del tratamiento 3 durante los cuatro ciclos de producción se puede observar en la figura 29, donde el crecimiento del *V. parahaemolyticus* en el tratamiento 3 (R1) reporto valores dentro del rango normal en el ciclo 2 y 3 con un mínimo de $1.60E+01$, mientras en la R2 no presentaron crecimiento de esta especie en sus cuatro ciclos de producción. No obstante, control obtuvo valores fuera del rango normal, siendo este de $4.12E+02$ en la R1 (ciclo 3). En cuanto a la presencia del *V. vulnificus* en el tratamiento se obtuvo valores máximos de $1.00E+02$ en el ciclo 3 (R1) y mínimo de $3.60E+01$ (R1), que en comparación del anterior estadio se demuestra un aumento en su concentración en dicha replica, mientras en la R2 no mostro crecimiento de esta especie en los cuatro ciclos, control permaneció dentro de los rangos normales y sin presencia del *V. vulnificus* en la R1 durante los cuatro ciclos de producción.

Para el caso del *V. alginolyticus* presento valores con exponente a la cuarta, siendo $1.20E+04$ como la concentración más alta en el ciclo 4 (R1), aunque control obtuvo valores máximos de $2.05E+04$ en el ciclo 4 (R2).

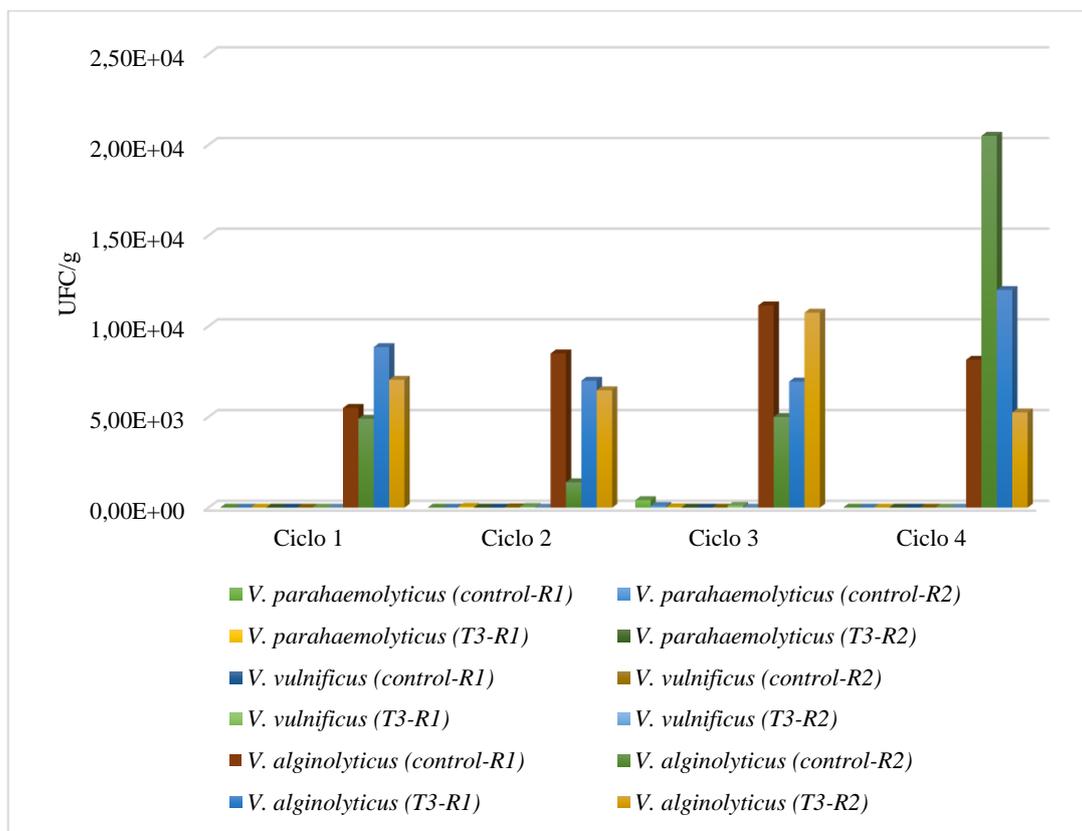


Figura 29. Dinámica de crecimiento de las especies de *Vibrios* spp. (UFC/g) en el estadio de Mysis del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción.

Continuando con el estadio de postlarva los resultados del conteo bacteriológico con el tratamiento 3 se puede observar en la figura 30, donde la carga bacteriana en colonias amarillas se registraron valores máximos en el ciclo 1 y 2 con el dato más alto de $1.17E+04$ en el tratamiento 3 (R2) mientras en control su valor máximo fue de $6.31E+04$ en el ciclo 4 (R1). Por otra parte, el crecimiento de colonias verdes para el tratamiento 3 (R1 y R2) y control (R1 y R2) se reportó valores de exponente a la tercera, a excepción del ciclo 4 que presentó un valor mínimo de $6.74E+02$ en el tratamiento 3 (R2).

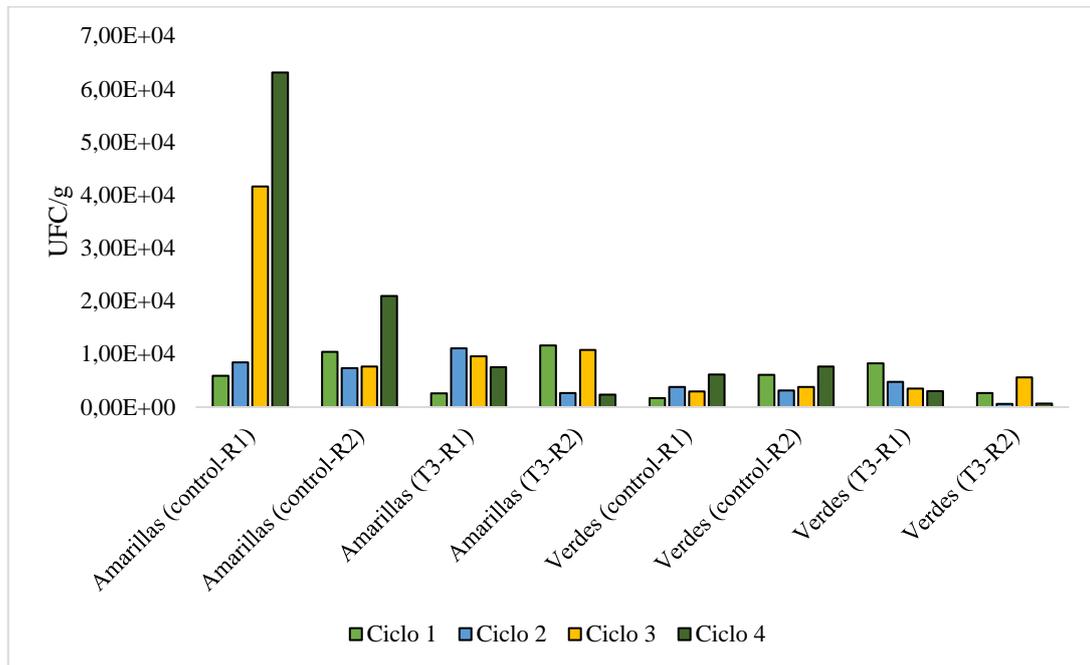


Figura 30. Dinámica de crecimiento de *Vibrios* (UFC/g) en el estadio de Postlarvas del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción.

Los resultados del crecimiento de especies de *Vibrios* spp., en el estadio Postlarva con la aplicación del tratamiento 3 en los cuatro ciclos de producción se puede observar en la figura 31, donde el *V. parahaemolyticus* en el tratamiento 3 (R2) reporto valores dentro del rango normal, siendo de $2.15E+01$ en el ciclo 2 como valor mínimo, sin embargo, en el tratamiento 3 (R1) en el ciclo 2 se observó una alta concentración de *V. parahaemolyticus* con $1.08E+02$, resultando ser un rango severo para postlarvas de camarón, aunque control presento una concentración mucho más alta en el ciclo 4 con $7.40E+03$ en la (R1) y $5.30E+03$ en la R2 (ciclo 2).

Para el caso del *V. vulnificus* en el tratamiento se registró valores dentro de los rangos normales en los cuatro ciclos de producción, con una concentración mínima de $5.75E+00$, no obstante control presentó valores con exponente a la segunda siendo de $2.95E+02$ en el ciclo 4 (R1) como el dato más alto. En cuanto al crecimiento del *V. alginolyticus* en el tratamiento no hubo mucha variación con el exponente, mostrando resultados de exponente a la tercera a excepción del ciclo 2 (R1) donde se obtuvo como valor máximo de $1.06E+04$. Aunque control al igual presento una alta concentración del crecimiento del *V. alginolyticus* en el ciclo 4 (R1 y R2), siendo de $1.43E+04$ como el valor máximo.

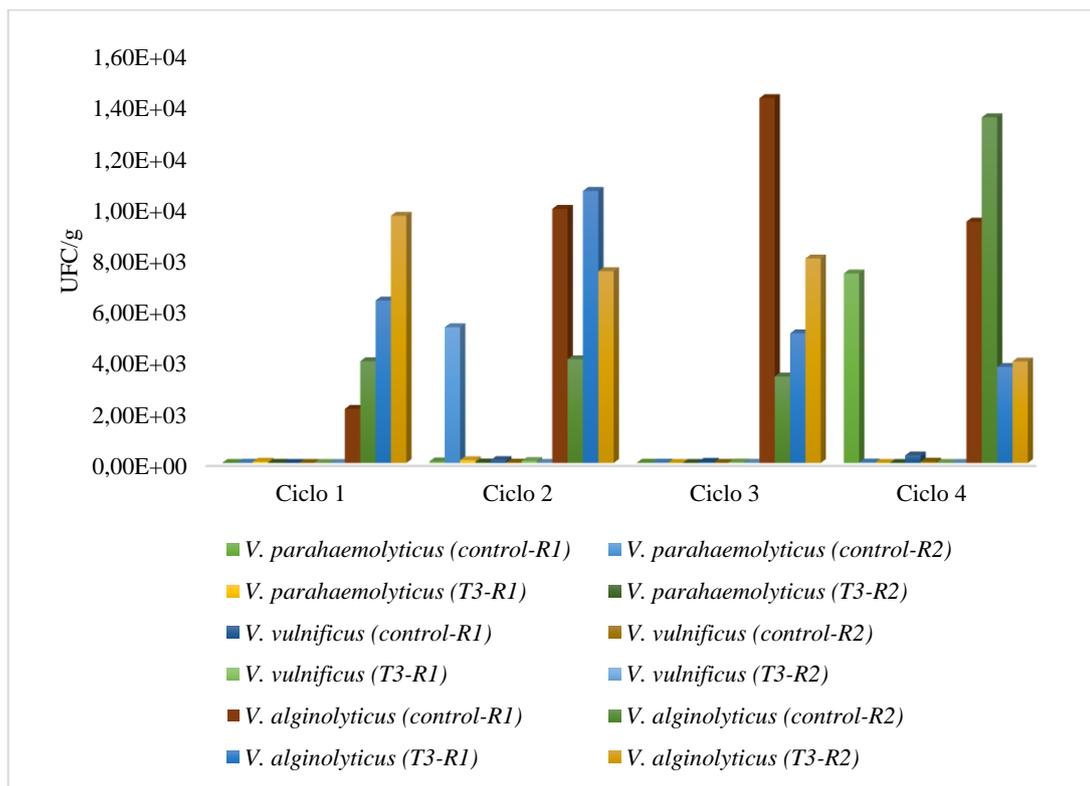


Figura 31. Dinámica de crecimiento de las especies de *Vibrios* spp. (UFC/g) en el estadio de postlarva del tratamiento 3 y control durante los cuatro ciclos de producción.

7.7 Comparación de la dinámica de crecimiento de Vibrios en los estadios larvales del camarón *L. vannamei* con la inclusión de los probióticos.

En la figura 32 se puede observar que hubo diferencias significativas en la carga bacteriana de colonias amarillas entre control y los dos tratamientos en el estadio Zoea, Mysis y postlarva, esto pudo atribuirse a sus altas concentraciones durante el periodo de estudio. En el estadio Zoea el crecimiento de colonias amarillas con altas concentraciones se registró en control con $1.39E+04$ seguido del tratamiento 2 (R2) con una concentración de $1.02E+04$ mientras, que el mínimo se observó en el tratamiento 2 (R1) con $6.76E+03$ y en el tratamiento 3 (R2) con $7.85E+03$, para el caso de las colonias verdes en los tratamientos y control se presentó valores con exponente a la tercera con un valor máximo de $8.13E+03$ en control y con un valor mínimo de $2.14E+03$ en el tratamiento 3 (R2).

En el estadio de Mysis, en control (R1) se registró $2.17E+04$ como mayor valor en colonias amarillas, seguido del tratamiento 2 (R2) con $1.19E+04$ mientras tanto, en colonias verdes en este estadio el dato más alto correspondió a control (R2) con $9.40E+03$. Y finalmente, para postlarva se observó el valor máximo de colonias amarillas en control con $2.98E+04$ (R1) y $1.16E+04$ en R2, mientras los tratamientos se mantuvieron con exponente a la tercera con un máximo de $8.69E+03$ en el tratamiento 2 (2), para el caso de las colonias verdes la concentración más alta fue en el tratamiento 3 (R1) con $4.88E+03$.

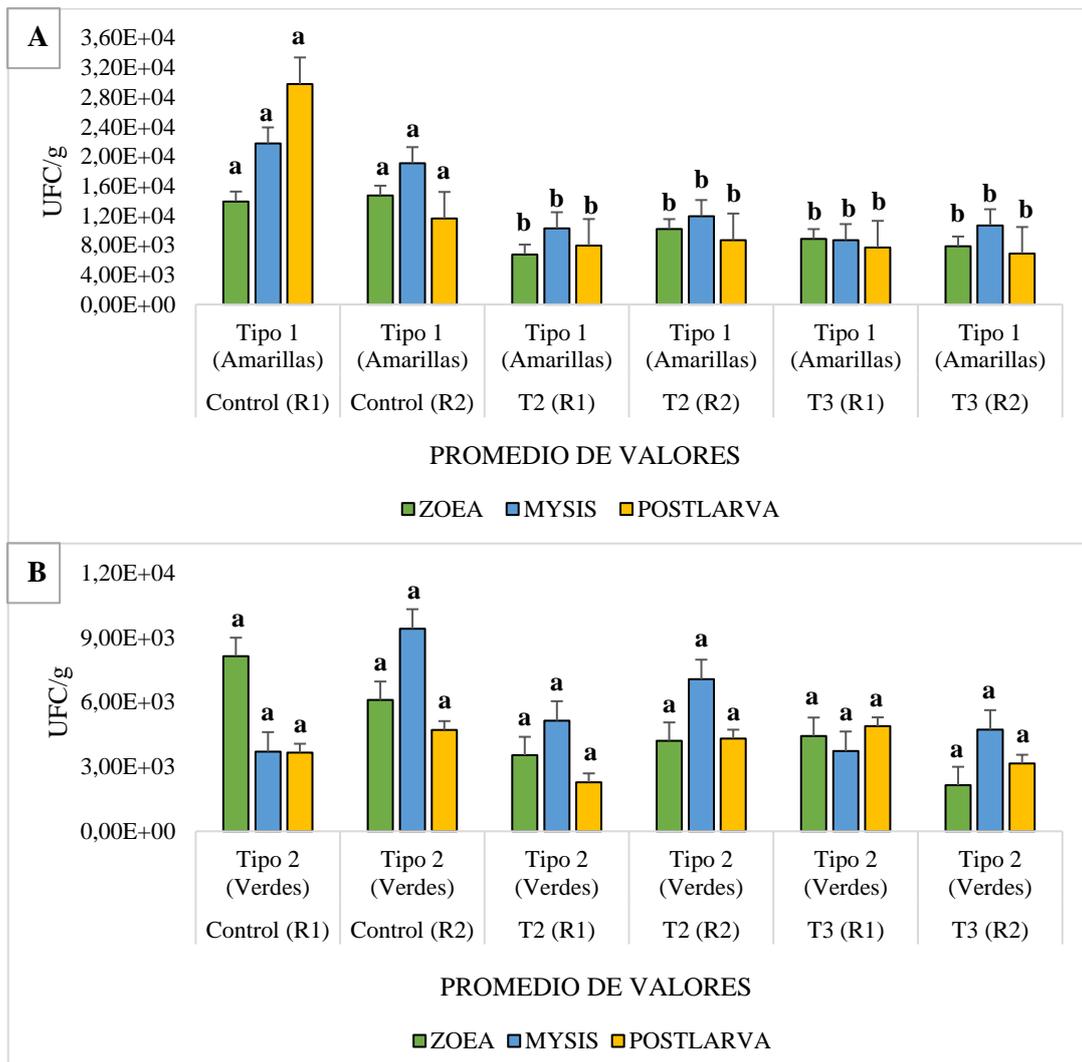


Figura 32. Comparación de la carga bacteriana A) Colonias amarillas y B) Colonias verdes; entre los tratamientos y sus respectivas réplicas en los estadíos larvales del camarón *L. vannamei*. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

En la figura 33 se puede observar la comparación de la carga bacteriana de *Vibrios* spp., entre los tratamientos y sus respectivas réplicas en los estadíos larvales del camarón, hubo diferencias significativas entre control y los dos tratamientos en la

concentración del *V. parahaemolyticus*, mientras en las especies de *V. vulnificus* y *V. alginolyticus* no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre los tratamientos y control.

En el estadio Zoea se obtuvo la mayor concentración de carga bacteriana del *V. parahaemolyticus* en control (R1) con $1.25E+03$, seguido del tratamiento 2 (R2) con $1.18E+02$. Para el caso del *V. vulnificus* el tratamiento 3 (R1) registro la máxima concentración con $1.60E+01$, mientras que para el *V. alginolyticus* el mayor crecimiento bacteriano fue en el tratamiento 2 (R2) con $7.79E+03$. Por otra parte, para el estadio de Mysis presentó una alta concentración del *V. parahaemolyticus* en control (R1) con $1.03E+02$ y con $7.10E+01$ en el tratamiento 2, para el *V. vulnificus* su concentración máxima fue en el tratamiento 3 (R1) con $3.40E+01$ y para el *V. alginolyticus* su máximo valor se observó en el tratamiento 2 (R2) con $1.21E+04$.

Finalmente, para el estadio de postlarva la carga bacteriana máxima del *V. parahaemolyticus* fue en control (R1) con $1.87E+03$ y con $1.34E+03$ en la R2, mientras, para los tratamientos se mantuvo con el mínimo exponente. En el *V. vulnificus* en control se presentó el máximo exponente con $1.11E+02$ mientras en los dos tratamientos se mantuvo dentro de los rangos normales, en cuanto al *V. alginolyticus* su máxima concentración fue en control (R1) con $8.93E+03$, seguido del tratamiento 3 (R2) con $7.27E+03$.

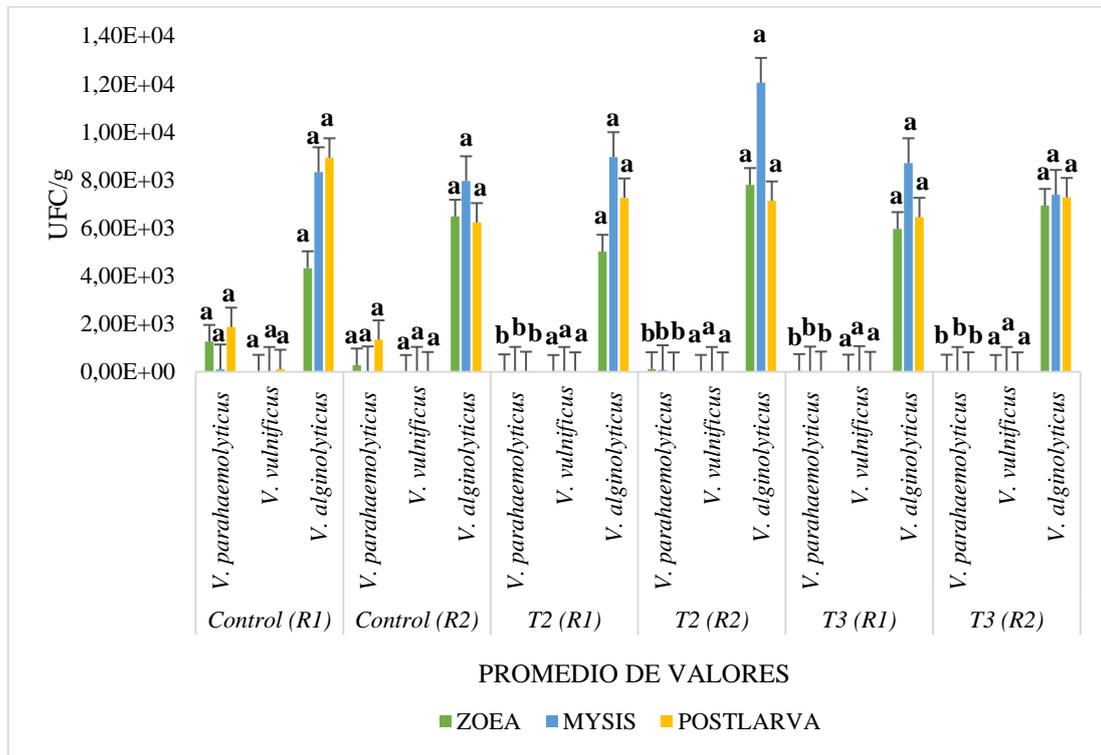


Figura 33. Comparación de la carga bacteriana de las especies de *Vibrios* spp. entre los tratamientos y sus respectivas réplicas en los estadios larvales del camarón. Las letras iguales señalan que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía ($p > 0,05$) y test de Tukey.

7.8 Anomalías en larvas *L. vannamei* con los tratamientos aplicados

Con relación al análisis de patología en fresco en los tanques de estudio en los estadios larvales durante el periodo de investigación no se presentó evidencia de lesiones relacionadas a las enfermedades mencionadas. En el estadio Zoea con un total de 240 muestras analizadas por tratamiento, se encontró con la inclusión del probiótico A que el 26% de larvas presento necrosis a nivel de las puntas de las antenas y espinas furcales, mientras con la inclusión del probiótico B se registró del 20% larvas presento

esta necrosis mencionada, no obstante, en control se encontró el 30% de larvas con esta necrosis y el 18% con problema de muda.

En el estadio Mysis con un total de 240 muestras analizadas por tratamiento, se observó en el tratamiento 2 que el 10% presento problemas de muda en la región furcal y el 50 % de anomalías a nivel de intestino, mientras que en el tratamiento 3 se registró el 8% con problemas de muda y del 42% de larvas con anomalías a nivel de intestino, en control fue del 13% con problemas de muda y del 56% con anomalías a nivel de intestino.

Y finalmente, en el estadio de postlarva con un total de 600 muestras analizadas por tratamiento, se encontró el 30% de larvas con anomalías en branquias y del 55% con afectaciones de necrosis en el tratamiento 2, mientras que en el tratamiento 3 se registró el 25% de larvas con anomalías en branquias y 43 % con afectaciones de necrosis, en control con 36% de larvas con anomalías en branquias y del 62% con afectaciones de necrosis.

8. DISCUSIÓN

Boyd (1989) considera como valores óptimos de salinidad entre 15 a 25 UPS para el cultivo de *L. vannamei* mientras que, Chong-Robles et al. (2014), reporta como rangos óptimos salinidades entre 20 y 40 UPS para los estadíos larvarios (nauplio, Zoea y Mysis) por ser una especie eurihalina en condiciones naturales. No obstante, McGraw et al. (2002), Stern et al. (1990) y Bray et al. (1994), menciona que esta especie puede tolerar desde agua dulce (0,5–2,0 UPS) hasta agua hipersalina de 60 UPS, mientras que, durante el periodo de estudio en los tratamientos y control, el parámetro de salinidad en el cultivo se registró dentro de los rangos óptimos para el crecimiento y supervivencia del camarón, entre 32 y 33 UPS, presentando valores máximos en el estadío de Mysis.

La concentración de pH del agua en los tratamientos y control oscilo entre 7.6 a 8.4, resultados similares reportó Wang et al. (2004), quienes señalaron que el pH de 7.6 a 8.6 son favorables para el cultivo de camarón *L. vannamei*. Las ligeras variaciones pH obtenidas en cada estadío pH según Balakrishnan et al. (2011) se deben a que este parámetro se encuentra influenciado por factores como la acidez del fondo del tanque, los insumos utilizados para el cultivo del camarón y la actividad biológica. Cabe mencionar que valores mayores a 9 o menores de 6 pueden producir estrés al organismo o mortalidad de la población (Kubitza, 2017).

Los resultados de temperatura en los tratamientos y control se mantuvieron en un rango de 32 a 34 °C con valores máximos en el estadio de Mysis, Ponce- Palofox et al. (1997), mencionan como rangos óptimos para el desarrollo y crecimiento del camarón *L. vannamei* entre 25 a 35 °C, mientras que, la FAO (2010), menciona que al cultivar *L. vannamei* la temperatura debe presentar rangos mínimos de entre los 28 °C, pero puede soportar de 20 °C hasta 35 °C. Motesdeoca et al. (2002), indican que los cultivos de camarón con temperaturas de 33 °C la respuesta inmunitaria a cargas virales es mayor que a temperaturas bajas.

En referencia a la concentración de OD en el agua de los tratamientos y control, se mantuvieron dentro de los rangos óptimos, entre 4 a 5.5 mg/L, estos valores concuerdan con los reportes de Cuéllar, et al. (2010), quienes mencionan que el cultivo con 4 mg/L a 12 mg/L, es el mejor rango para el desarrollo normal fisiológico del camarón. Las variaciones de concentraciones de OD, según Muñoz (2022), Sánchez y Gándara (2011), se debe a que, la solubilidad de oxígeno dependerá de la temperatura, es decir a mayor temperatura menor será la disolución del oxígeno.

Por otra parte, en el desarrollo de los parámetros productivos con la inclusión de los probióticos comerciales en la dieta diaria de larvas *L.vannamei*, Kumar et al (2008), Vieira et al. (2016), Zorriehzahra et al. (2016), Huynh et al. (2017), Irianto y Austin (2002), mencionan que esta es la mejor forma usar estos probióticos en el cultivo de camarón que con la aplicación en el medio, debido a su capacidad de colonización y

adhesión en el tracto gastrointestinal, mejoramiento de las funciones inmunes, la resistencia a enfermedades frente a infecciones virales u bacterianas y por sus efectos benéficos como en el incremento en la conversión alimentaria, aumento del rendimiento del crecimiento y supervivencia.

Con respecto, a los resultados obtenidos en la etapa experimental con la inclusión del probiótico A con *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* y el probiótico B a base de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, Betaglucanos, MOS, levaduras y complejos enzimáticos en la dieta diaria de los estadíos larvales (Zoea, Mysis y Postlarva), no hubo diferencias significativas, Ruiz (2009), quien utilizando tres probióticos comerciales (constituido por diferentes grupos de microorganismos) determinó que no existió diferencia estadística significativa, no mejoraron el crecimiento, ni la sobrevivencia ni la conversión alimenticia de camarones *L. vannamei*.

No obstante, entre los tratamientos, se registró que el uso de la combinación simbiótica (*Bacillus* spp. más prebióticos), ejerció un efecto satisfactorio en cuanto a supervivencia, biomasa, factor de conversión alimenticia y crecimiento en comparación con control y con el tratamiento del probiótico A. De acuerdo con Huynh et al. (2018), Huynh et al. (2019), Gatesoupé (1999), Wang (2007) y Lesmanawati (2013), un mejor crecimiento y supervivencia se obtiene como resultado de la suplementación dietética con la combinación de bacterias probióticas más prebióticos; esto podría atribuirse al aumento de la eficiencia de la ingesta activa de alimentos,

actividades elevadas de enzimas digestivas, cambios fisiológicos y biológicos en la condición gastrointestinal y protección del hospedero frente a agentes infecciosos.

El tratamiento con el probiótico A posiblemente no fue tan eficiente como el tratamiento con el probiótico B debido a su administración individual, esto concuerda con Granillo (2007) y Sanjinez (2006), quienes reportaron bajos pesos en el cultivo con la utilización de probióticos constituidos por un solo grupo de microorganismos (bacterias ácido lácticas). No obstante, Toledo et al. (2019) reportan que la combinación de diferentes cepas es mejor que probióticos compuestos por mono-especies para el mejoramiento en los resultados de supervivencia, crecimiento y factor de conversión alimenticia.

Indariyanti & Aprilia (2022), reportaron bajos valores de FCA en el cultivo de *L. vannamei* con la utilización de probióticos que contenían bacterias del grupo *Lactobacillus* y *Bacillus*, estos autores mencionan que aplicadas en la dieta aumenta el apetito de los camarones, aumentando así la absorción de los nutrientes del alimento además ayuda a digerir la proteína contenida en el pienso.

Por otra parte, en base a los resultados de los análisis bacteriológicos realizados para *Vibrios* hubo diferencias significativas entre los tratamientos y control, según Boonanuntanasarn (2016), encontraron que los simbióticos dietéticos (*Bacillus subtilis*

+ más prebióticos) aumentaron significativamente la abundancia de bacterias beneficiosas y redujeron la abundancia de *Vibrios* spp., en el intestino del camarón blanco, mientras Sánchez-Ortiz et al. (2016) hallaron que la administración de *Bacillus* spp., en la dieta de *L. vannamei* reducía la prevalencia viral en los organismos y estimulaba el crecimiento y la expresión de genes del sistema inmune.

9. CONCLUSIONES

Los parámetros físico-químicos del agua medidos en los tratamientos y control no presentaron significancia estadística, manteniéndose dentro de los rangos óptimos, por tanto, lo, no establecieron un factor influyente para las variables del estudio.

Entre los tratamientos y control no hubo diferencias significativas en el desarrollo de los parámetros productivos, sin embargo, dentro de las variables medidas de crecimiento (PL/g, longitud, peso y uniformidad) se registró mejores resultados con la aplicación del probiótico B (*Bacillus* spp. + prebióticos), con un promedio de 196 en PL/gr, peso promedio de 5.2 mg, longitud promedio de 8.5 mm y con un 73 % de uniformidad.

Por otra parte, al igual que en el parámetro de crecimiento, la inclusión del probiótico B en la dieta diaria de larvas *L. vannamei* mostro efectos positivos en la biomasa, factor de conversión alimenticia y supervivencia, con un promedio de 12 kg en la biomasa, 0.68 en F.C.A y con 70 % de supervivencia a comparación del probiótico A que presento un promedio de 11 kg en la biomasa, 0.72 en F.C.A y 65 % de supervivencia, y al tratamiento testigo con un promedio de 8 kg en biomasa, 0.76 en F.C.A y 66% de supervivencia, evidenciándose la efectividad del uso de productos simbióticos.

Por último, las especies de *Vibrios* spp., estuvieron presentes en los tratamientos durante los cuatro ciclos de producción, el aumento de concentraciones de UFC de *Vibrios* spp., se presentó en el tratamiento testigo, donde el *V. parahaemolyticus* se registró con rangos elevados, a diferencia de los tratamientos con el probiótico A y B que se mantuvieron con los rangos mínimos, logrando una diferencia significativa entre tratamientos y control ($p < 0,05$). Demostrando la efectividad del uso de probióticos en la dieta ante esta especie de Vibrio.

En cuanto a los resultados de patología en fresco se determinó el mayor porcentaje de problemas con necrosis, muda, anomalías a nivel de intestino y branquias en control y con el tratamiento con el probiótico A.

10. RECOMENDACIONES

Realizar más investigaciones sobre el desarrollo de los parámetros productivos en larvicultura de *L. vannamei* con el uso de probióticos comerciales en otras regiones costeras del país.

Se sugiere realizar análisis de la composición de estos productos comerciales para futuras investigaciones.

Realizar pruebas bacteriológicas como en WSSV, *Pseudomonas* y Hongos, además de la evaluación de protozoarios u otros microorganismos asociados en el cultivo, ya que, por lo general en larvicultura de camarón blanco, estos podrían perjudicar en el desarrollo de los indicadores productivos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbass, A., Sharifuzzaman, S. M. & Austin, B. (2010). Cellular components of probiotics control *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish diseases*, 33(1), 31-37. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01086.x>
- Abriouel, H., Franz, C. M., Omar, N. B. & Gálvez, A. (2011). Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS microbiology reviews*, 35(1), 201-232. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x>
- Aguayo, D. A. (2006). *Uso de probióticos y β -1,3/1,6-glucanos en la alimentación del camarón *Litopenaeus vannamei* como estrategia para incrementar la producción* [Tesis de pregrado, Escuela superior Politécnica del Litoral (ESPOL)]. Repositorio Institucional. <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/4600>
- Aguirre-Guzman G, Lara-Flores M, Sánchez-Martínez JG, Campa-Córdova, A. I. & Luna-González, A. (2012). The use of probiotics in aquatic organisms: A review. *African Journal of microbiology research*, 6(23), 4845-4857. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.1038>
- Aguirre-Guzmán, G., López-Acevedo, E. & Vázquez-Sauceda, M. (2013). Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*. *Scientia Agropecuaria*, 4(2), 121-127. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/229>
- Akhter, N., Wu, B., Memon, A. M. & Mohsin, M. (2015). Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology*, 45(2), 733-741. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.038>
- Alavandi, S. V., Vijayan, K. K., Santiago, T. C., Poornima, M., Jithendran, K. P., Ali, S. A. & Rajan, J. J. S. (2004). Evaluation of *Pseudomonas* sp. PM 11 and *Vibrio fluvialis* PM 17 on immune indices of tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Fish & Shellfish Immunology*, 17(2), 115-120.

- Allameh, S. K., Yusoff, F. M., Ringø, E., Daud, H. M., Saad, C. R. & Ideris, A. (2015). Effects of dietary mono-and multiprobiotic strains on growth performance, gut bacteria and body composition of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). *Aquaculture nutrition*, 22(2), 367-373. <https://doi.org/10.1111/anu.12265>
- Alonso-Urmeneta, B., Díaz, R., Gamazo, C. & López-Goñi, I. (2000). *Manual práctico de microbiología*. Masson, S. A.
- Andrews, C., Exell, A. & Carrington, N. (1996). *Como prevenir y curar las enfermedades de los peces de acuario*. CEAC, S.A.
- Aquino, O. R. (2011). *Análisis y propuestas de mejoras en la productividad del laboratorio de larvas de camarón "David Moreno"* [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/4147>
- Arellano, E. (1993). *Guías Técnicas en el cultivo de larvas de camarón. En Memoria de Edgar Arellano. Once años dedicados a la investigación y desarrollo de la Acuicultura en el Ecuador* (1), 1-231.
- Arias Cango, M. A. & Morán Arellano, R. A. (2020). *Análisis de la relación entre los métodos de alimentación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* con los parámetros de producción, calidad de suelo y agua, en sistemas de cultivos semi-intensivos de granjas camaroneras localizadas en la provincia de El Oro* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica del Litoral]. Repositorio institucional. <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/50601>
- Ashraf, A. (2000). *Probiotics in fish farming. Evaluation of a candidate bacterial mixture*. [Tesis de doctorado, University of Agricultural Sciences]. Vattenbruks institutionen.
- Austin, B. (2010). Vibrios as causal agents of zoonoses. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.015>

- Avdalov, N. (2007). *Manuel de control de calidad de los productos de la acuicultura*. Proyectos de INFOPECSA. Recuperado el 4 de diciembre de 2021 de <https://www.infopesca.org/sites/default/files/complemento/publilibreacceso/320/manual-de-control-de-calidad-de-los-productos-de-la-acuicultura.pdf>
- Balakrishnan, G., Peyail, S., Ramachandran, K., Theivasigamani, A., Savji, K. A., Chokkaiah, M. & Nataraj, P. (2011). Growth of cultured white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) in different stocking density. *Advances in Applied Science Research*, 2(3), 107-113.
- Balcázar, J. L., Vendrell, D., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Gironés, O. & Múzquiz, J. L. (2007). In vitro competitive adhesion and production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria against fish pathogens. *Veterinary microbiology*, 122(3-4), 373-380.
- Beltrán, R., Ramírez, J. & Sánchez, J. (2012). Comportamiento de la temperatura y el oxígeno disuelto en la presa Picachos, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Hidrobiología*, 22(1), 4-98. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972012000100012
- Bengmark, S. (1998). Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*, 42(1), 2-7. <https://gut.bmj.com/content/gutjnl/42/1/2.full.pdf>
- Bermudes-Lizárraga, J. F. Soto, M., Medina-Jasso, M. A., Román-Reyes, J. C., Flores-Campaña, L. M., Ortega-Salas, A. A. & Piña-Valdez, P. (2017). Efecto de la temperatura y salinidad en el crecimiento larval de *Litopenaeus vannamei*. *Revista de biología marina y oceanografía*, 52(3), 611-615. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v52n3/art16.pdf>
- Bolívar-Ramírez, N., Seiffert, W. Q., Vieira, F. D. N., Mouriño, J. L. P., Jesus, G. F. A., Ferreira, G. S. & Andreatta, E. R. (2013). Dieta suplementada com prebiótico, probiótico e simbiótico no cultivo de camarões marinhos. *Pesquisa*

Agropecuária Brasileira, 48, 913-919. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800015>

Boonanuntanasarn, S., Wongsasak, U., Pitaksong, T. & Chaijamrus, S. (2016). Effects of dietary supplementation with β -glucan and synbiotics on growth, haemolymph chemistry, and intestinal microbiota and morphology in the Pacific white shrimp. *Aquaculture Nutrition*, 22(4), 837-845.

Boyd, C. & Hanson, T. (2010). Dissolved-Oxygen concentrations in pond Aquaculture. *Global Aquaculture Advocate*. 40-41. <https://www.globalseafood.org/advocate/dissolved-oxygen-concentrations-pond-aquaculture/>

Boyd, C. E. & Gautier, D. (2000). Effluent composition and water quality standards. *Advocate*, 3(5), 61–66. https://www.researchgate.net/profile/Claude-Boyd/publication/285843894_Effluent_composition_and_water_quality_standards/links/57bdf35a08aeb95224d05fb1/Effluent-composition-and-water-quality-standards.pdf

Boyd, C. E. & Tucker, C. S. (1998). *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Springer Science & Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5407-3>

Boyd, C. E. (1998). Pond water aeration systems. *Aquacultural Engineering*, 18(1), 9-40. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(98\)00019-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(98)00019-3)

Boyd, C. E. (2001). Consideraciones sobre la calidad del agua y suelo en cultivos de camarón. En M. C. Haws & C. E. Boyd (Eds.), *Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica* (pp. 1–30). Imprenta UCA.

Boyd, C.E. (1990). *Water quality in ponds for aquaculture*. Alabama Agricultural Experiment Station,

Boyd, C.E., 1989. Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming. American Soybean Association and US Wheat Associates, Singapore, p. 70

- Boyd, C.E., Kwei Lin C., Pantoja C.R., Lightner D.V., Brock J.A., Johnson K. & Treece, G.D. (2005). *Buenas prácticas de manejo para el cultivo de camarón*. The David and Lucile Packard Foundation.
- Brackman, G., Defoirdt, T., Miyamoto, C., Bossier, P., Van Calenbergh, S., Nelis, H. & Coenye, T. (2008). Cinnamaldehyde and cinnamaldehyde derivatives reduce virulence in *Vibrio* spp. by decreasing the DNA-binding activity of the quorum sensing response regulator LuxR. *BMC microbiology*, 8(1), 1-14.
- Bray, W. A., Lawrence, A. L. & Leung-Trujillo, J. R. (1994). The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHNV virus and salinity. *Aquaculture*, 122(2-3), 133-146.
- Brock, J. A. & Main, K.L. (1994). *A guide to the common problems and diseases of culture Penaeus vannamei*. Oceanic Institute.
- Bruno, M. E. & Montville, T. J. (1993). Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(9), 3003-3010. <https://doi.org/10.1128/aem.59.9.3003-3010.1993>
- Budde, B. B., Hornbæk, T., Jacobsen, T., Barkholt, V. & Koch, A. G. (2003). *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. *International journal of food microbiology*, 83(2), 171-184.
- Campa-Córdova, A. I., Yenni-Morales, C., Guzmán-Murillo, M. A. & Aguirre-Guzman, G. (2020). Evaluación de la respuesta productiva e inmune en juveniles de camarón *Litopenaeus vannamei* alimentado con mezclas probióticas. *Revista de biología marina y oceanografía*, 55(1), 73-78.
- Carr, F. J., Chill, D. & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.
- Carrillo, P. (2013). Comportamiento del oxígeno disuelto en la columna de agua de las estaciones fijas ecuatorianas 1988-2013. *Acta oceanográfica del pacífico*,

18(1),41-48.

https://www.inocar.mil.ec/web/phocadownloadpap/actas_oceanograficas/acta18/OCE1801_4.pdf

- Carvajal, J. & Bolaños Núñez, M. (2013). *Efecto de dos tipos de dietas: comercial y experimental sobre el crecimiento de camarones Litopenaeus vannamei en etapa de postlarvas*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León]. Repositorio Institucional. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/3107/1/225254.pdf>
- Chai, P. C., Song, X. L., Chen, G. F., Xu, H. & Huang, J. (2016). Dietary supplementation of probiotic Bacillus PC465 isolated from the gut of Fenneropenaeus chinensis improves the health status and resistance of Litopenaeus vannamei against white spot syndrome virus. *Fish & shellfish immunology*, 54, 602-611. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.05.011>
- Chikindas, M. L., García-Garcerá, M. J., Driessen, A. J., Ledebøer, A. M., Nissen-Meyer, J., Abee, T., Konings, W., Nes, I. & Venema, G. (1993). Pediocin PA-1, a bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1. 0, forms hydrophilic pores in the cytoplasmic membrane of target cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11), 3577-3584.
- Chong-Robles, J., Charmantier, G., Boulo, V., Lizárraga-Valdéz, J., Enríquez-Paredes, L. M. & Giffard-Mena, I. (2014). Osmoregulation pattern and salinity tolerance of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) during post-embryonic development. *Aquaculture*, 422, 261-267.
- Chumpol, S., Kantachote, D., Nitoda, T. & Kanzaki, H. (2017). The roles of probiotic purple nonsulfur bacteria to control water quality and prevent acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) for enhancement growth with higher survival in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during cultivation. *Aquaculture*, 473, 327-336.

- Chythanya, R., Karunasagar, I. & Karunasagar, I. (2002). Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by a marine *Pseudomonas* I-2 strain. *Aquaculture*, 208(1-2), 1-10. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00714-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00714-1)
- Coutteau, P. (2016). Alimentos funcionales supresores de organismos nocivos para reducir el impacto de enfermedades en el cultivo de camarón. Congreso Ecuatoriano de Acuicultura (Aquaexpo), Ecuador.
- Cuéllar-Anjel J, C Lara, V Morales, A De Gracia & O García. (2010). *Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo del camarón blanco Penaeus vannamei*. OIRSA-OSPESCA, C.A. pp. 132: https://utm.edu.ec/fcv/acuicultura/images/acuicultura/pdf_revistas/Manual_de_buenas_practicas_de_manejo_para_el_cultivo_de_camaron_blanco.pdf
- Cuéllar-Anjel, J. (2013a). *Tipos de Vibriosis*. The center food security and public health. https://www.cfsph.iastate.edu/search_gcse/?q=vibriosis
- Cuéllar-Anjel, J. (2013b). *Hepatopancreatitis necrotizante (NHP)*. The center food security and public health. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/necrotizing-hepatopancreatitis-es.pdf>
- Cutting, S. M. (2011). Bacillus probiotics. *Food microbiology*, 28(2), 214-220. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.007>
- Dalmin, G., Kathiresan, K. & Purushothaman, A. (2001). Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. *Indian J. Exp. Biol.*, 39, 939-942.
- Dawood, M. A. & Koshio, S. (2016). Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: a review. *Aquaculture*, 454, 243-251. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.033>
- Decamp, O., Moriarty, D. J. & Lavens, P. (2008). Probiotics for shrimp larviculture: review of field data from Asia and Latin America. *Aquaculture Research*, 39(4), 334-338. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01664.x>

- Defoirdt, T. (2016). Specific antivirulence activity, a new concept for reliable screening of virulence inhibitors. *Trends in Biotechnology*, 34(7), 527-529.
- Defoirdt, T., Boon, N. & Bossier, P. (2010). Can bacteria evolve resistance to quorum sensing disruption? *Plos Pathogens*, 6(7), <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000989>
- Defoirdt, T., Sorgeloos, P. & Bossier, P. (2011). Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. *Current opinion in microbiology*, 14(3), 251-258.
- Díaz-Rosales, P., Salinas, I., Rodríguez, A., Cuesta, A., Chabrillon, M. & Balebona, M. C. (2006). Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response after dietary administration of heat-inactivated potential probiotics. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(4), 482-492.
- Dierckens, K., Rekecki, A., Laureau, S., Sorgeloos, P., Boon, N., Van Den Broeck, W. & Bossier, P. (2009). Development of a bacterial challenge test for gnotobiotic sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Environmental microbiology*, 11(2), 526-533.
- Dulanto-Gomez, J. R. (2013). *Identificación rápida de especies del género Vibrio asociados con el cultivo de " langostino blanco" Litopenaeus vannamei por amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA)* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor De San Marcos]. Repositorio Institucional. <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3432>
- Elgoul, A. (2016). Retos de la producción de larvas del Ecuador. Congreso Ecuatoriano de Acuicultura (Aquaexpo), Ecuador.
- FAO/ OMS (2001). *Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>
- FAO. (1989). Consultoría en cultivo de camarón

- FAO. (2006). State of world aquaculture. Copia avanzada. *Food and Agriculture Organization of the United Nations- FAO*. Roma. 198 p.
- FAO. (2010). Programa de información de especies acuáticas. *Penaeus vannamei* (Boone, 1931).
- FAO. (2020). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción*. Roma. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- Farzanfar, A. (2006). The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 48(2), 149-158. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00116.x>
- Fenucci, J.L. (1988). Manual para la cría de camarones peneidos. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación*, (8), 1-88. <https://www.fao.org/3/AB466S/AB466S00.htm>
- Franco, A. (1994). *Manejo Técnico de Granjas Camaroneras*, MEDEPESCA. <https://catalogosiidca.csuca.org/Record/BICU.4267/Details>
- Franco, R., Arenal, A., Martín, L., Martínez, Y., Santiesteban, D., Sotolongo, J., Pimentel, E., Carrillo, O. & Bossier, P. (2016a). *Psychrobacter* sp. 17-1 enhances growth and survival in early postlarvae of white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone, 1931 (Decapoda, Penaeidae). *Crustaceana*, 89(13), 1467-1484. https://brill.com/view/journals/cr/89/13/article-p1467_2.xml
- Franco, R., Martín, L., Arenal, A., Santiesteban, D., Sotolongo, J., Cabrera, H., Mejías, J., Rodríguez, G., Moreno, A., Pimentel, E. & Castillo, N. M. (2016b). Evaluation of two probiotics used during farm production of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Aquaculture research*, 48(4), 1936-1950. <https://doi.org/10.1111/are.13031>
- Fuller, R. (1992). History and development of probiotics. En R. Fuller (Ed.), *Probiotics: The scientific basis* (pp. 1-8). Springer. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-94-011-2364-8>

- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of applied bacteriology*, 66(5), 365-378. <https://europepmc.org/article/med/2666378>
- García, R. (2019). *Efecto de la aplicación del probiótico en el crecimiento, supervivencia y estado sanitario de Litopenaeus vannamei en etapa de precría* [Tesis de Maestría, Universidad de Tumbes]. Repositorio institucional. <http://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/989>
- Gatesoupe, F.J. (1999). The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180(1-2), 147- 165. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00187-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00187-8)
- Geng, X., Dong, X. H., Tan, B. P., Yang, Q. H., Chi, S. Y., Liu, H. Y. & Liu, X. Q. (2012). Effects of dietary probiotic on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture Nutrition*, 18(1), 46-55.
- Golder, H. M., Simon, A. A. S., Santigosa, E., de Ondarza, M. B. & Lean, I. J. (2022). Effects of probiotic interventions on production efficiency, survival rate, and immune responses of shrimp: A meta-analysis and meta-regression. *Aquaculture*, 552, 737973.
- Gothwal, R. & Shashidhar, T. (2015). Antibiotic pollution in the environment: a review. *Clean–Soil, Air, Water*, 43(4), 479-489. <https://doi.org/10.1002/clen.201300989>
- Granillo, G. (2007). *Incidencia en el Incremento de Peso y Consumo de Alimento de Litopenaeus vannamei con tres Tratamientos de Probióticos en el alimento y en el medio*. [Tesis para optar el título de Ingeniero Acuícola, Universidad Técnica de Machala].
- Hadiroseyani, Y., & Sutanti, A. (2013). Growth of tiger shrimp *Penaeus monodon* post-larvae fed on *Artemia* containing *Vibrio* SKT-b probiotic. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 12(1), 79-85. <https://doi.org/10.19027/jai.12.79-85>
- Hai, N. V., Buller, N., & Fotedar, R. (2009). Effects of probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *Pseudomonas aeruginosa*) on the growth, survival and immune

- parameters of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). *Aquaculture Research*, 40(5), 590-602.
- Hai, N.V. (2015). Research findings from the use of probiotics in tilapia aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology*, 45(2), 592-597. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.026>.
- Huynh, T. G., Cheng, A. C., Chi, C. C., Chiu, K. H. & Liu, C. H. (2018). A synbiotic improves the immunity of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Metabolomic analysis reveal compelling evidence. *Fish & Shellfish Immunology*, 79, 284-293.
- Huynh, T. G., Shiu, Y. L., Nguyen, T. P., Truong, Q. P., Chen, J. C. & Liu, C. H. (2017). Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: A review. *Fish & shellfish immunology*, 64, 367-382.
- Indariyanti, N. & Aprilia, T. (2022). Probiotic Supplementation in Feed on Nutritional Quality, Feed Efficiency, and the Growth of Vannamei Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*). In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* (Vol. 1012, No. 1, p. 012044). IOP Publishing.
- Itami, T., Asano, M., Tokushige, K., Kubono, K., Nakagawa, A., Takeno, N., Nishimura, H., Maeda, M., Kondo, M. & Takahashi, Y. (1998). Enhancement of disease resistance of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *Aquaculture*, 164(1-4), 277-288.
- Jamali, H., Imani, A., Abdollahi, D., Roozbehfar, R. & Isari, A. (2015). Use of probiotic *Bacillus* spp. in rotifer (*Brachionus plicatilis*) and *Artemia* (*Artemia urmiana*) enrichment: Effects on growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Larvae. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 7(2), 118-125. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-015-9189-3>

- Jory, D. E. (1998). Use of probiotics in penaeid shrimp growout. *Aquacult. Magazine*, 24(1), 62-67.
- Kamei, Y., Yoshimizu, M., Ezura, Y. & Kimura, T. (1988). Screening of bacteria with antiviral activity from fresh water salmonid hatcheries. *Microbiology and immunology*, 32(1), 67-73.
- Kavitha, M., Raja, M. & Perumal, P. (2018). Evaluation of probiotic potential of *Bacillus* spp. isolated from the digestive tract of freshwater fish *Labeo calbasu* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Reports*, 11, 59-69.
- Kesarcodi-Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M. J. & Gibson, L. (2008). Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274(1), 1-14.
- Kesarcodi-Watson, A., Miner, P., Nicolas, J. L. & 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, 29-34.
- Klewicki, R. & Klewicka, E. (2004). Antagonistic activity of lactic acid bacteria as probiotics against selected bacteria of the Enterobacteriaceae family in the presence of polyols and their galactosyl derivatives. *Biotechnology letters*, 26(4), 317-320.
- Kubitza, F. (2017). El parámetro de calidad del agua a menudo ignorado: pH. *Global Aquaculture Advocate*. <https://www.globalseafood.org/advocate/el-parametro-de-calidad-del-agua-a-menudo-ignorado-ph/>
- Kuhlwein, H., Merrifield, D. L., Rawling, M. D., Foey, A. D. & Davies, S. J. (2014). Effects of dietary β -(1,3) (1,6) -D-glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato-immunological profile of mirror carp (*C. yprinus carpio* L.). *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 98(2), 279-289. <https://doi.org/10.1111/jpn.12078>

- Kumar, V., Roy, S., Meena, D. K. & Sarkar, U. K. (2016). Application of probiotics in shrimp aquaculture: importance, mechanisms of action, and methods of administration. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24(4), 342-368.
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzmán-Méndez, B. E. & López-Madrid, W. (2003). Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216(1-4), 193-201.
- Lesmanawati W (2013). *Applications of synbiotic on shrimp Litopenaeus vannamei: Resistance against infectious virus myonecrosis and growth performance*. [Tesis de master, Universidad de Indonesia].
- Lightner, D. V. & Redman, R. M. (1998). Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture*, 164(1-4), 201-220.
- Lightner, D. V., Redman, R. M., Pantoja, C. R., Noble, B. L. & Tran, L. (2012). Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. *Global aquaculture advocate*, 15(1), 40.
- Lightner, D.V. & McVey, J.P. (1993). Diseases of cultured penaeid shrimp. En J.P. McVey (Ed.), *CRC Handbook of Mariculture, Crustacean Aquaculture (2.^a ed.)* (pp. 393-486). CRC Press, Boca Raton.
- Lightner, D.V. (1985). A review of the diseases of cultured penaeid shrimps and prawns with emphasis on recent discoveries and developments. En Y. Taki, J.H. Primavera & J.A. Llobrera (Eds.), *Proceedings of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps* (pp. 79-103). The Dept. <https://repository.seafdec.org.ph/handle/10862/871>
- Limsuwan, C. & Ching, C. (2 de septiembre de 2013). *Postlarvae evaluation key to controlling shrimp diseases*. Global Seafood Alliance. <https://www.globalseafood.org/advocate/postlarvae-evaluation-key-to-controlling-shrimp-diseases/>

- Limsuwan, C. (2005). *Cultivo intensivo del camarón blanco*. Tumpis. http://www.nicovita.com/extranet/Boletines/oct_dic_
- Liu, C. H., Chiu, C. S., Ho, P. L. & Wang, S. W. (2009). Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. *Journal of applied microbiology*, 107(3), 1031-1041. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04284.x>
- Liu, H., Li, Z., Tan, B., Lao, Y., Duan, Z., Sun, W. & Dong, X. (2014). Isolation of a putative probiotic strain S12 and its effect on growth performance, non-specific immunity and disease-resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 41(2), 300-307.
- Liu, X., Steele, J. C. & Meng, X. Z. (2017). Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: a review. *Environmental Pollution*, 223, 161-169. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.003>
- Lombana, S. M., Gómez, O. T. & Matamoros, K. N. (2016). Evaluación de la carga bacteriana y resistencia a antibióticos de bacterias aisladas en zonas marinas de alta influencia de producción larvaria en Ecuador. *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas*, 19(38), 137-146.
- Luis-Villasenor, I. E., Castellanos-Cervantes, T., Gomez-Gil, B., Carrillo-García, Á. E., Campa-Córdova, A. I. & Ascencio, F. (2013). Probiotics in the intestinal tract of juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*: modulation of the bacterial community. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(2), 257-265.
- Luis-Villaseñor, I. E., Macías-Rodríguez, M. E., Gómez-Gil, B., Ascencio-Valle, F. & Campa-Córdova, Á. I. (2011). Beneficial effects of four *Bacillus* strains on the larval cultivation of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 321(1-2), 136-144. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.036>

- Ma, D., Hu, Y., Wang, J., Ye, S. & Li, A. (2006). Effects of antibacterials use in aquaculture on biogeochemical processes in marine sediment. *Science of the total environment*, 367(1), 273-277.
- Machado, M. L. C., Quiroz, O. J. C. & Romero, J. (2020). *Comparación del crecimiento del camarón blanco en dos condiciones de estudio, salinidad óptima y salinidad cercana a cero* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León]. Repositorio Institucional. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6943/1/240608.pdf>
- Maeda, M., Shibata, A., Biswas, G., Korenaga, H., Kono, T., Itami, T. & Sakai, M. (2013). Isolation of lactic acid bacteria from kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*) intestine and assessment of immunomodulatory role of a selected strain as probiotic. *Marine biotechnology*, 16(2), 181-192.
- Marcillo, F. (2010). *Metodología de Cultivo Comercial de Camarón en Ecuador Especies: Penaeus (Litopenaeus) vannamei P. stylirostris*. Obtenido de <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/8888/1/Clase02.pdf>
- Martínez, E. & Herrera, C. (2012). *Folleto Guía para el componente curricular calidad de agua en estanques acuícolas*. UNAN-León, Nicaragua, 1-28
- Martínez, E. & Lin, F. (1994). *Manual Para el Cultivo de Camarones Marinos del Género Penaeus*, Autoridad Noruega para el desarrollo Internacional (NORAD). UNAN-León, Dpto. Biología, León-Nicaragua, 54 pág.
- Martínez, E. (2012). Crecimiento de camarones Marinos *Litopenaeus Vannamei* en estanques de concreto. *Laboratorio de Investigaciones Marinas y Acuícolas (LIMA)*. UNAN-León. León Nicaragua, 49-55.
- Mayarí, R., Macías, E. M. R., Ruiz, M. & Espinosa, M. C. (2000). Determinación de oxígenos disuelto en aguas salinas aplicando modelos matemáticos y como sensor electrodo de membrana. *Tecnología del agua*, (197), 52-65. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=82152>

- McGraw, W. J., Davis, D. A., Teichert-Coddington, D. & Rouse, D. B. (2002). Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity: influence of age, salinity endpoint, and rate of salinity reduction. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(1), 78-84.
- Medranda, S., Molina, C. & Briones, K. (18 de agosto de 2022). *Importancia del control de enfermedades en los cultivos de camarones*. Panorama acuícola. <https://panoramaacuicola.com/2022/08/18/importancia-del-control-de-enfermedades-en-los-cultivos-de-camarones/>
- Melgar Valdes, C. E., Barba Macías, E., Álvarez-González, C. A., Tovilla Hernandez, C. & Sánchez, A. J. (2013). Microorganisms effect with probiotic potential in water quality and growth of the shrimp *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) in intensive culture. *Revista de Biología Tropical*, 61(3), 1215-1228. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442013000400018
- Mendoza, J. R. & Rodríguez, J. S. (2020). *Monitoreo de los parámetros de temperatura y pH para evaluar su efecto en la producción de camarón blanco (Litopenaeus vannamei Boone, 1931) en San Luis La Herradura, La Paz* [Tesis de pregrado, Universidad de El Salvador]. Repositorio Institucional. <https://core.ac.uk/download/pdf/355870934.pdf>
- Miranda, I., Valles, J. L., Sánchez, R. & Álvarez, Z. (2010). Cultivo del camarón marino *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) en agua dulce. *Revista Científica*, 20(4),339-346. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592010000400002
- Mohajeri, J., Afsharnasab, M., Jalali, B., Kakoolaki, S., Sharifrohani, M. & Haghghi, A. (2011). Immunological and histopathological changes in *Penaeus semisulcatus* challenged with *Vibrio harveyi*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 10(2), 254-265.

- Mombelli, B. & Gismondo, M. R. (2000). The use of probiotics in medical practice. *International journal of antimicrobial agents*, 16(4), 531-536.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857900003228>
- Monroy, M., Castro, T., Fernández, F. & Mayorga, L. (2009). Revisión Bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. *Contactos*, 73, 63-72.
<http://www2.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n73ne/bacterio.pdf>
- Montesdeoca, M., Amano, Y., Echevarria, F., Betancourt, I., Panchana, F., Sotomayor, M. & Rodríguez, J. (2002). La respuesta inmunitaria celular del camarón *Litopenaeus vannamei* al WSSV y su utilidad en el control de la enfermedad en los estanques. *El Mundo Acuícola*, 8(1), 38-42.
- Montville, T. J. & Chen, Y. (1998). Mechanistic action of pediocin and nisin: recent progress and unresolved questions. *Applied microbiology and Biotechnology*, 50(5), 511-519.
- Mora, M. E. & Nuñez, J. V. (2020). *Diseño de un protocolo de evaluación de probióticos para camarón *Penaeus vannamei* basado en criterios de calidad* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica del Litoral]. Repositorio Institucional.
<https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/50605/1/D-109763%20MORA%20-%20NU%c3%91EZ.pdf>
- Morales, V. (1990) Levantamiento larvario de camarones peneidos. México, Cartilla Pradepesca.
- Morales, V., Cuéllar-Anjel, J., Tello, R. & Montoya, L. (2016). *Manual regional de procedimientos de emergencia para la prevención y el control de la enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas (AHPND)*. OIRSA.
<https://www.oirsa.org/contenido/documentos/AHPND/MANUAL%20DE%20PROCEDIMIENTOS%20AHPND%20ACTUALIZADO%20031016.docx.%5B5%5D.pdf>

- Morales-Covarrubias, M. (2008). Enfermedades Bacterianas. En V. Morales & J. Cuéllar-Anjel (Eds.), *Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos* (pp. 119-134). Programa CYTED Red II-D Vannamei. http://www.cesasin.com.mx/LIBRO_PATOLOGIA0EINMUNOLOGIA.pdf
- Morales-Covarrubias, M. S., Ruiz-Luna, A., Moura-Lemus, A. P., Montiel, V. T. S. & Conroy, G. (2011). Prevalencia de enfermedades de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en ocho regiones de Latinoamérica. *Revista científica*, 11(5), 434-446. <https://www.redalyc.org/pdf/959/95919362010.pdf>
- Moreno, C. (2002). *Polimorfismo intracromosómico de los genes del rRNA 16s y presencia de genes relacionados con patogenicidad en aislados ambientales del género Vibrio en la Costa Chilena* [Tesis de Doctorado, Universidad de Chile]. Repositorio institucional. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/106683>
- Moriarty, D. J. W. (1998). Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164(1-4), 351-358. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00199-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00199-9)
- Moriarty, D. J. W. (1999). Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. En C.R. Bell, M. Brylinsky & P. Johnson-Gren (Eds.), *Microbial Biosystems: New Frontiers: Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology* (pp. 237-243). Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Kentville N.S. y 2000.
- Mukherjee, A., Chandra, G. & Ghosh, K. (2019). Single or conjoint application of autochthonous *Bacillus* strains as potential probiotics: Effects on growth, feed utilization, immunity and disease resistance in Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture*, 512, 734302. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734302>
- Muñoz Villón, M. C. (2022). *Análisis de la calidad de agua en cultivo de larvas de camarón aplicando índice de calidad de agua ICA* [Tesis de pregrado, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Repositorio Institucional.

<https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/8857/1/UPSE-TBI-2022-0046.pdf>

- Najmi, N., Yahyavi, M. & Haghshenas, A. (2018). Effect of enriched rotifer (*Brachionus plicatilis*) with probiotic lactobacilli on growth, survival and resistance indicators of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(1), 11-20.
- Nayak, S. K. (2010). Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish & shellfish immunology*, 29(1), 2-14. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.02.017>.
- Newman, S. (2 de mayo de 2022). *Una actualización sobre la vibriosis, la principal enfermedad bacteriana que enfrentan los camarones*. Global Seafood Alliance. <https://www.globalseafood.org/advocate/una-actualizacion-sobre-la-vibriosis-la-principal-enfermedad-bacteriana-que-enfrentan-los-camarones/>
- Nikoskelainen, S., Ouwehand, A. C., Bylund, G., Salminen, S. & Lilius, E. M. (2003). Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish & shellfish immunology*, 15(5), 443-452.
- Nimrat, S., Boonthai, T., & Vuthiphandchai, V. (2011). Effects of probiotic forms, compositions of and mode of probiotic administration on rearing of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and postlarvae. *Animal feed science and technology*, 169(3-4), 244-258.
- Nimrat, S., Suksawat, S., Boonthai, T. & Vuthiphandchai, V. (2012). Potential *Bacillus* probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Veterinary microbiology*, 159(3-4), 443-450.
- O'Sullivan, L., Murphy, B., McLoughlin, P., Duggan, P., Lawlor, P. G., Hughes, H. & Gardiner, G. E. (2010). Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Marine drugs*, 8(7), 2038-2064.

- Ochoa-Solano, J. L. & Olmos-Soto, J. (2006). The functional property of Bacillus for shrimp feeds. *Food microbiology*, 23(6), 519-525.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.10.004>
- Ochoa-Solano, J. L. & Olmos-Soto, J. (2006). The functional property of Bacillus for shrimp feeds. *Food microbiology*, 23(6), 519-525.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.10.004>
- Pai, S. S., Anas, A., Jayaprakash, N. S., Priyaja, P., Sreelakshmi, B., Preetha, R., Philip, R., Mohandas, A. & 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), 847-860.
- Pande, G. S. J., Scheie, A. A., Benneche, T., Wille, M., Sorgeloos, P., Bossier, P. & Defoirdt, T. (2013). Quorum sensing-disrupting compounds protect larvae of the giant freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii from Vibrio harveyi infection. *Aquaculture*, 406, 121-124.
- Parker, R. B. (1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health*, 29, 4-8.
- Peña-Navarro, N. & Varela-Mejías, A. (2015). Análisis histopatológico en Litopenaeus vannamei infectado con Vibrio parahaemolyticus. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1), 44-53.
- Pérez-Chabela, M. D. L., Alvarez-Cisneros, Y., Soriano-Santos, J. & Pérez-Hernández, M. A. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica*, 30(1), 93-105.
- Ponce-Palafox, J., Martínez-Palacios, C. A. & Ross, L. G. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, Penaeus vannamei, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157(1-2), 107-115.
- Prieto, M., O'Sullivan, L., Tan, S. P., Mc-Loughlin, P., Hughes, H., O'Connor, P., Cotter, P., Lawlor, P. G. & Gardiner, G. E. (2012). Assessment of the

bacteriocinogenic potential of marine bacteria reveals lichenicidin production by seaweed-derived *Bacillus* spp. *Marine drugs*, 10(10), 2280-2299. <https://doi.org/10.3390/md10102280>

Prieur, D. (1981). Experimental studies of trophic relationships between marine bacteria and bivalve molluscs. *Kieler Meeresforschungen-Sonderheft*, 5, 376-383. <https://oceanrep.geomar.de/id/eprint/56140>

Priyaja, P., Jayesh, P., Correya, N. S., Sreelakshmi, B., Sudheer, N. S., Philip, R. & Singh, I. B. (2014). Antagonistic effect of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from various ecological niches on *Vibrio* species pathogenic to crustaceans. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(1), 76-84.

Prymaczok, N. C. (2012). *Aclimatación térmica y salina en juveniles de la langosta de agua dulce Cherax quadricarinatus. Papel fisiológico de la hormona hiperglucemiante* [Tesis de doctorado, Universidad de Buenos Aires]. Repositorio Institucional. https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/greenstone3/exa/collection/tesis/document/tesis_n5172_Prymaczok

Ramalho, R. S., Beltrán, D. J. & de Lora, F. (1990). *Tratamiento de aguas residuales*. Reverté. <https://books.google.com.pe/books?id=30etGjzPXyWC&printsec=copyright&hl=es#v=onepage&q&f=false>

Rengpipat, S., Tunyanun, A., Fast, A. W., Piyatiratitivorakul, S. & Menasveta, P. (2003). Enhanced growth and resistance to *Vibrio* challenge in pond-reared black tiger shrimp *Penaeus monodon* fed a *Bacillus* probiotic. *Diseases of aquatic organisms*, 55(2), 169-173. <https://www.int-res.com/abstracts/dao/v55/n2/p169-173/>

Reyes, J. (2018). *Sensibilidad bacteriana a agentes terapéuticos utilizados para controlar problemas bacterianos en larvicultura de *Penaeus Litopenaeus vannamei** [Tesis de pregrado, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/4432>

- Reyes-Mero, A. J. (2021). *Principales agentes infecciosos asociados al cultivo del camarón blanco Penaeus vannamei reportados en Ecuador durante el periodo 2010-2021* [Tesis de pregrado, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/6640/1/UPSE-TBI-2021-0016.pdf>
- Ringø, E. & Song, S. K. (2016). Application of dietary supplements (synbiotics and probiotics in combination with plant products and β -glucans) in aquaculture. *Aquaculture Nutrition*, 22(1), 4-24. <https://doi.org/10.1111/anu.12349>
- Ringø, E. (2020). Probiotics in shellfish aquaculture. *Aquaculture and Fisheries*, 5(1), 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.12.001>
- Riquelme, C., Araya, R. & Escribano, R. (2000). Selective incorporation of bacteria by *Argopecten purpuratus* larvae: implications for the use of probiotics in culturing systems of the Chilean scallop. *Aquaculture*, 181(1-2), 25-36.
- Román, L. F. (2013). *Estudio del efecto de bacterias probióticas sobre el sistema inmune en especies relevantes para la acuicultura marina* [Tesis Doctoral, Universidad de las Palmas de Gran Canaria]. Repositorio Institucional. https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/41720/1/0696577_00000_0000.pdf
- Ruiz, V. (2009). *Aplicación de tres tipos de probióticos comerciales en el cultivo de camarón Litopenaeus vannamei*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Machala]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/1758>
- Sacasqui, M. (2017). *Control avanzado sobre un sistema de aireación durante el cultivo de langostinos (Litopenaeus vannamei), usando modelos matemáticos para la predicción de oxígeno disuelto en acuicultura* [Tesis de Máster, Universidad de Piura]. Repositorio institucional Piura.

https://pirhua.udel.edu.pe/bitstream/handle/11042/3013/MAS_IME_AUT_018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Salminen, S., Isolauri, E. & Salminen, E. (1996). Probiotics and stabilisation of the gut mucosal barrier. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 5, 53-56.
<https://apjcn.nhri.org.tw/SERVER/APJCN/5/1/53.htm>

Sánchez, A. & Gándara. (2011). *Conceptos básicos sobre gestión ambiental y desarrollo sustentable* (1ª ed.). SEMARNAT.
<https://www.virtualpro.co/biblioteca/conceptos-basicos-de-gestion-ambiental-y-desarrollo-sustentable>

Sánchez-Ortiz, A. C., Angulo, C., Luna-González, A., Álvarez-Ruiz, P., Mazón-Suástegui, J. M. & Campa-Córdova, Á. I. (2016). Effect of mixed-Bacillus spp isolated from pustulose ark *Anadara tuberculosa* on growth, survival, viral prevalence and immune-related gene expression in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 59, 95-102.

Sánchez-Ortiz, A. C., Angulo, C., Luna-González, A., Álvarez-Ruiz, P., Mazón-Suástegui, J. M. & Campa-Córdova, Á. I. (2016). Effect of mixed-Bacillus spp isolated from pustulose ark *Anadara tuberculosa* on growth, survival, viral prevalence and immune-related gene expression in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 59, 95-102.

Sandoval, M., Olivares, A., Aguilar, I., Flores, C., López, OV., Alvarado, V., Ramon., ER., Solórzano, MC. & Miranda, KA. (2018). *Evaluación molecular de la presencia de AHPND/EMS en Penaeus vannamei, calidad de agua y suelo de estanques de camarónicas de la Bahía de Jiquilisco, el Salvador*. UNASA:
http://www.unasa.edu.sv/PDF/publicaciones_investigacion/evaluacion_molecular_de_la_presencia_de_ahpndems_unasa.pdf

Sanjinez, E. (2006). *Alimentación de Penaeus vannamei utilizando dos marcas de alimento balanceado comercial en un cultivo semi-intensivo en la empresa langostinera Domingo Rodas S.A.* [Tesis para optar el título de Ingeniero Pesquero]. Universidad Nacional de Tumbes.

- Santos, D. (2018). *Selección y evaluación de cepas bacterianas probióticas tipo Bacillus con actividad antagónica sobre cepas bacterianas patógenas aisladas en Penaeus Litopenaeus vannamei* [Tesis de pregrado, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Repositorio institucional. <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/4431>
- Sapcharoen, P. & Rengpipat, S. (2013). Effects of the probiotic *Bacillus subtilis* (BP 11 and BS 11) on the growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 19(6), 946-954. <https://doi.org/10.1111/anu.12040>
- Sarango, V. (2021). *Identificación de microorganismos patógenos que afectan en el estado larval de camarón blanco (Litopenaeus vannamei)* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Machala]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/17520/1/ECUACA-2021-IAC-DE00019.pdf>
- Schaeck, M. (2016). *Probiotics in sea bass larviculture: development and application of an innovative toolbox to unravel their modes of action*. [Tesis de doctorado, Ghent University]. Institutional repository. <https://biblio.ugent.be/publication/8172239/file/8172266>
- Seenivasan, C., Radhakrishnan, S., Muralisankar, T. & Saravana Bhavan, P. (2016). Effects of probiotics on survival, growth and digestive enzymes activities in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879). *Proceedings of the Zoological Society* 69(1), 52–60.
- Senok, A. C., Ismaeel, A.Y. & Botta, G.A. (2005). Probiotics: facts and myths. *Clin. Microbiol. Infect.*, 11(12), 958–966. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01228.x>
- Shariff, M., Yusoff, F. M., Devaraja, T. N. & Rao, P. S. (2001). The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. *Aquaculture Research*, 32(3), 181-187.

- Shazwani, N., Pipudin, M., Jasmin, M. Y., Ina-Salwany, M. Y., Harmin, S. A. & Karim, M. (2015). Evaluation of Antagonism Activity of Potential Malaysian Probiotic Strains, *Bacillus* spp. JAQ04 and *Micrococcus* spp. JAQ07 in in vitro Condition and on *Artemia fransisca* against *Vibrio alginolyticus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10(4), 300.
- Shen, W. Y., Fu, L. L., Li, W. F. & Zhu, Y. R. (2010). Effect of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* on the growth, performance, immune response and antioxidant activities of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research*, 41(11), 1691-1698.
- Shen, W. Y., Fu, L. L., Li, W. F. & Zhu, Y. R. (2010). Effect of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* on the growth, performance, immune response and antioxidant activities of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research*, 41(11), 1691-1698. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02554.x>
- Silva, E. F., Soares, M. A., Calazans, N. F., Vogeley, J. L., do Valle, B. C., Soares, R. & Peixoto, S. (2012). Effect of probiotic (*Bacillus* spp.) addition during larvae and postlarvae culture of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 44(1), 13-21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03001.x>
- Slepecky, R.A. (1992). "What is a *Bacillus*", En RH. Doi, M. Gloughlin (Eds.). *Biology of Bacilli: Applications to industry* (pp. 1-21). Butterworth – Heinemann.
- Song, S. K., Beck, B. R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H. D. & Ringø, E. (2014). Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology*, 40(1), 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.06.016>
- Soriano, R. R. (2017). *Efecto de la harina de espirulina Arthrospira platensis como complemento alimenticio sobre el crecimiento y supervivencia de la zoea y mysis de Litopenaeus vannamei* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Tumbes]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/347>

- Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, F., Román, L., Acosta, B. & Real, F. (2009). Uso de probióticos en Acuicultura. *Revista canaria de las ciencias veterinarias*, 6-7, 51-54.
https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/12399/1/0280574_0006_0010.pdf
- Soto Sarria, N. A. & González, E. G. (2009). *Efecto del uso de tres tratamientos de probióticos sobre algunos parámetros poblacionales y biológicos de los estadios desde Nauplio cinco (N5) a postlarva Uno (PL1) de camarón blanco (Litopenaeus vannamei) en el laboratorio LARVINIC, Las Peñitas, León, Nicaragua* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León]. Repositorio Institucional.
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/4939/1/214751.pdf>
- Soto, J. A. (2021). *Análisis de producción y económico de camarón Penaeus vannamei y Tilapia Oreochromis spp. en Ecuador, 2009-2018* [Tesis de pregrado, Universidad de Santa Elena]. Repositorio Institucional.
<https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/6654>
- Stern, S., Daniels, H. & Letellier, E. (1990). Tolerance of post larvae and juvenile *Penaeus vannamei* to low salinity. In Abstracts, *World Aquaculture* (Vol. 90, p. 73).
- Suárez, M. G., Medina, Z., Montiel, M., Ibarra, J. & Salcedo, A. (2015). Distribución de *Vibrio* spp. en agua y sedimento de estanques productores de camarón *Litopenaeus vannamei* cultivados con agua del Lago de Maracaibo (Venezuela). *Revista Científica*, 25(4), 293-299.
- Talavera, V., Sánchez, D. & Zapata, M. (1997). Tasa o factor de conversión alimenticia en el cultivo de camarón. *Boletín Nicovita*. <https://cesasin.mx/wp-content/uploads/2017/12/Cam-Tasa-de-conversio%CC%81n-alimenticia.pdf>
- Tejera-Hernández, B., Rojas-Badía, M. M. & Heydrich-Pérez, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y

- el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.
- Ten Brink, B., Minekus, M., Bol, J. & Huis-Veld, J. (1987). Production of antibacterial compounds by lactobacilli. *FEMS Microbiololy Review*, 46, 64.
- Tenecota, R., Mite, J. & Alcívar, S. (2018). Enfermedades, tratamientos y recomendaciones en el cultivo del camarón. *Espirales revista multidisciplinaria de investigación*, 2(22), 94-107. <https://scholar.archive.org/work/tk53slrugjbltj3lgxcacw144e/access/wayback/http://revistaespirales.com/index.php/es/article/download/379/286>
- Thörnqvist, P. O. & Söderhäll, K. (1997). Crustacean immune reactions, a short review. diseases in Asian aquaculture III, published by the Fish Health Section. *Asian Fisheries Society, Philippines*.
- Tinh, N. T. N., Dierckens, K., Sorgeloos, P. & Bossier, P. (2008). A review of the functionality of probiotics in the larviculture food chain. *Marine Biotechnology*, 10(1), 1-12. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10126-007-9054-9>
- Tinoco, Y. G. & Dreyfus, G. (2017). Motilidad de las bacterias marinas del género *Vibrio*. *Revista de Educación Bioquímica*, 34(4), 98-108. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2015/reb154c.pdf>
- Toledo, A., Castillo, N. M., Carrillo, O. & Arenal, A. (2018). Probióticos: una realidad en el cultivo de camarones. Artículo de revisión. *Revista de Producción Animal*, 30(2), 57-71.
- Toledo, A., Castillo, N. M., Carrillo, O. & Arenal, A. (2018). Probióticos: una realidad en el cultivo de camarones. Artículo de revisión. *Revista de Producción Animal*, 30(2), 57-71.
- Toledo, A., Frizzo, L., Signorini, M., Bossier, P. & Arenal, A. (2019). Impact of probiotics on growth performance and shrimp survival: A meta-analysis. *Aquaculture*, 500, 196-205.

- Toro M., D., Llanco A., L., Lora V., M., Tiparra T., R. & Serrano-Martínez, E. (2021). Efecto de microorganismos eficaces en los parámetros productivos y calidad de agua en el cultivo semi-intensivo de langostino blanco *Litopenaeus vannamei*. *Salud Y Tecnología Veterinaria*, 8(2), 45-57. <https://doi.org/10.20453/stv.v8i2.3873>
- Torres, M., Romero, M., Prado, S., Dubert, J., Tahrioui, A., Otero, A. & Llamas, I. (2013). N-acylhomoserine lactone-degrading bacteria isolated from hatchery bivalve larval cultures. *Microbiological research*, 168(9), 547-554.
- Venkateswara, A. R. (2007). Bioremediation to restore the health of aquaculture. *Pond Ecosystem Hyderabad*, 500(082), 1-12.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. & Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(4), 655-671.
- Vieira, F. D. N., Jatobá, A., Mouriño, J. L. P., Buglione Neto, C. C., Silva, J. S. D., Seiffert, W. Q., Soares, M. & Vinatea, L. A. (2016). Use of probiotic-supplemented diet on a Pacific white shrimp farm. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45, 203-207.
- Vieira, F. N., Buglione, C. C., Mouriño, J. P. L., Jatobá, A., Martins, M. L., Schleder, D. D., Andreatta, E. R., Barraco, M. A. & Vinatea, L. A. (2010). Effect of probiotic supplemented diet on marine shrimp survival after challenge with *Vibrio harveyi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 62, 631-638.
- Vieira, F., Bolivar, N., Legarda, E., Schleder, D., Seiffert, W. & Hayashi, L. (2017). En L.E. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.G. Nieto-López, D.A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-Delgado, L.M. López Acuña & M. Galaviz-Espinoza (Eds.), *Investigación y Desarrollo en Nutrición Acuicola* (pp. 78-105).

- Villalon, J. R. (1994). *Manual práctico para la producción comercial Semi-Intensiva de Camarón Marino*. Texas A & M Sea Grant College Program. https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/41998/noaa_41998_DS2.pdf
- Villamil Díaz, L. & Martínez-Silva, M. A. (2009). Probióticos como herramienta biotecnológica en el cultivo de camarón: reseña. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR*, 38(2), 165-187.
- Villamil, L., Figueras, A., Planas, M. & Novoa, B. (2003). Control of *Vibrio alginolyticus* in *Artemia* culture by treatment with bacterial probiotics. *Aquaculture*, 219(1-4), 43-56. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00515-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00515-X)
- Vinatea, L. (2014). Capacidad de carga en el cultivo de camarón. En M. Velarde, S. Stanislaus, & J. Camposano (Edits.), Libro de resúmenes *XVI CONGRESO ECUATORIANO DE ACUICULTURA Y AQUAEXPO* (págs. 22-23). Guayaquil: Cámara Nacional de Acuicultura.
- Viteri, E. (2015). *Caracterización Microbiológica de bacterias marinas recuperadas en sistema de producción comerciales de postlarvas (Litopenaeus vannamei), Mar Bravo-Santa Elena* [Tesis de pregrado, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/2119/1/UPSE-TBM-2015-008.pdf>
- Wang YB (2007). Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquacult.* 269: 259-264. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.035>
- Wang, X., Ma, S., Dong, S. & Cao, M. (2004). Effects of salinity and dietary carbohydrate levels on growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Shellfish Research*, 23(1), 231-237.

- Wang, Y. & Gu, Q. (2010). Effect of probiotics on white shrimp (*Penaeus vannamei*) growth performance and immune response. *Marine Biology Research*, 6(3), 327-332. <https://doi.org/10.1080/17451000903300893>
- Wang, Y. B. (2007). Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 269(1-4), 259-264. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.035>
- Wang, Y. B., Xu, Z. R. & Xia, M. S. (2005). The effectiveness of commercial probiotics in northern white shrimp *Penaeus vannamei* ponds. *Fisheries science*, 71(5), 1036-1041.
- Widanarni, W., Suwanto, A., Sukenda, S. & Lay, B. W. (2003). Potency of *Vibrio* isolates for biocontrol of vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae. *BIOTROPIA-The Southeast Asian Journal of Tropical Biology*, (20), 11-23. <https://journal.biotrop.org/index.php/biotropia/article/view/180/149>
- Xia, Z., Zhu, M. & Zhang, Y. (2014). Effects of the probiotic *A. rthrobacter* sp. CW 9 on the survival and immune status of white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Letters in applied microbiology*, 58(1), 60-64. <https://doi.org/10.1111/lam.12156>
- Xue, M., Wen, C., Liang, H., Ding, M., Wu, Y. & Li, X. (2016). In vivo evaluation of the effects of commercial *Bacillus* probiotics on survival and development of *Litopenaeus vannamei* larvae during the early hatchery period. *Aquaculture research*, 47(5), 1661-1669. <https://doi.org/10.1111/are.12719>.
- Yambay Rueda, R. E. & Álvarez Alvarado, M. E. (2017). *Cultivo intensivo de camarón blanco Litopenaeus vannamei en sistemas cerrados de recirculación* [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/21008/1/TESIS%20FINAL%20RODRIGO%20YAMBAY.pdf>

- Yanbo, W. & Zirong, X. (2006): Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed Science and Technology*, 127 (3-4), 283–292. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.09.003>
- Zhou, X. X., Wang, Y. B. & Li, W. F. (2009). Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 287(3-4), 349-353.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M. H., Takami, G. A., Lovett, D. L., Mirvaghefi, A. R. & Shakouri, M. (2006). The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252(2-4), 516-524. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.021>
- Zokaeifar, H., Babaei, N., Saad, C. R., Kamarudin, M. S., Sijam, K. & Balcazar, J. L. (2014). Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio harveyi* infection in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 36(1), 68-74.
- Zokaeifar, H., Balcázar, J. L., Saad, C. R., Kamarudin, M. S., Sijam, K., Arshad, A. & Nejat, N. (2012). Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 33(4), 683-689.
- Zorriehzahra, M. J., Delshad, S. T., Adel, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K. & Lazado, C. C. (2016). Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Veterinary quarterly*, 36(4), 228-241.

ANEXOS

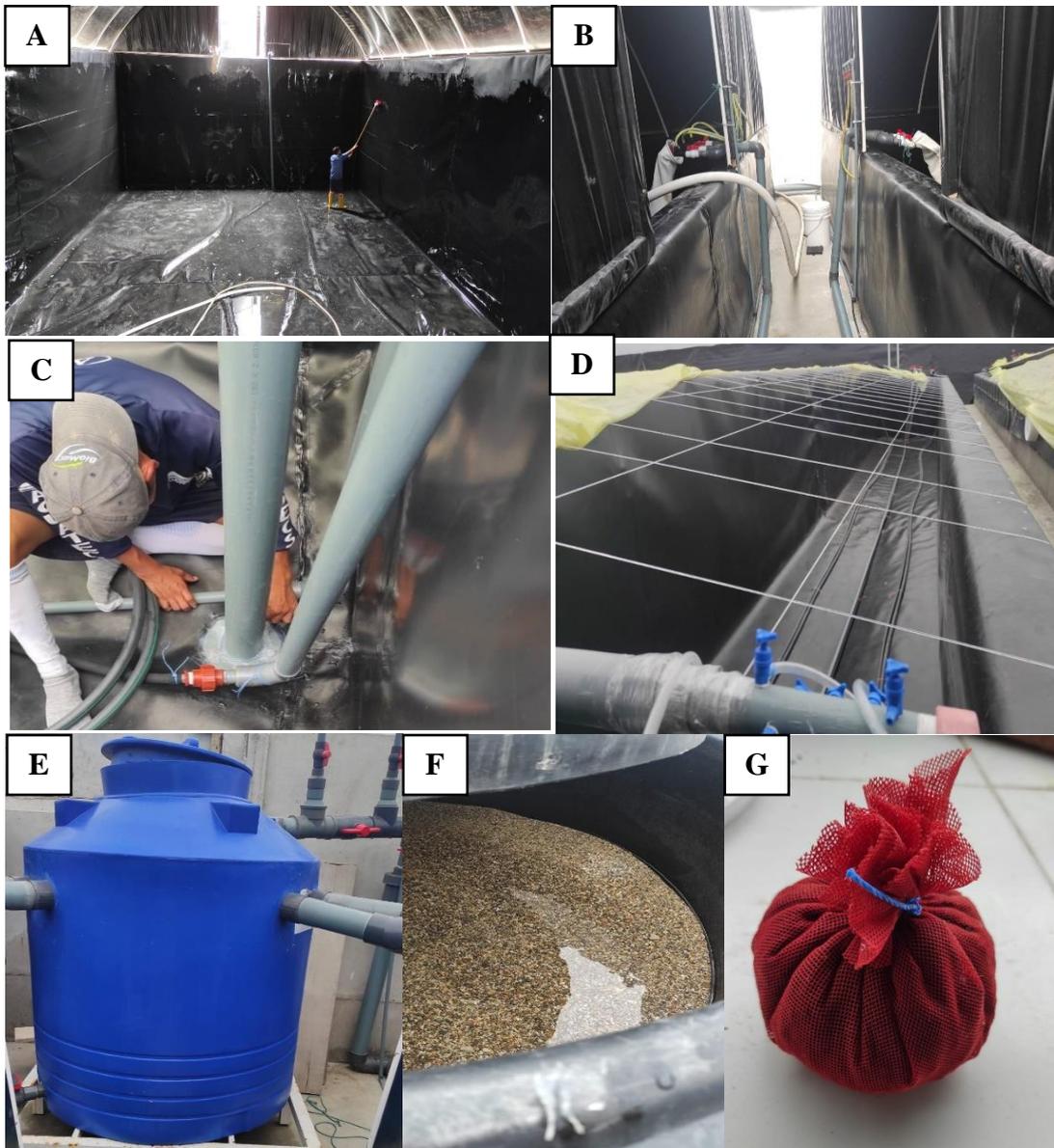


Figura 34. Preparacion de los tanques y tratamiento del agua antes de la siembra. A y B: Lavado y llenado del reservorio. C y D: Preparacion de los tanques. E y F: Tratamiento del agua por un sistema de desinfeccion de ozono y grava. G: Utilización de carbón activado para el llenado de tanques.

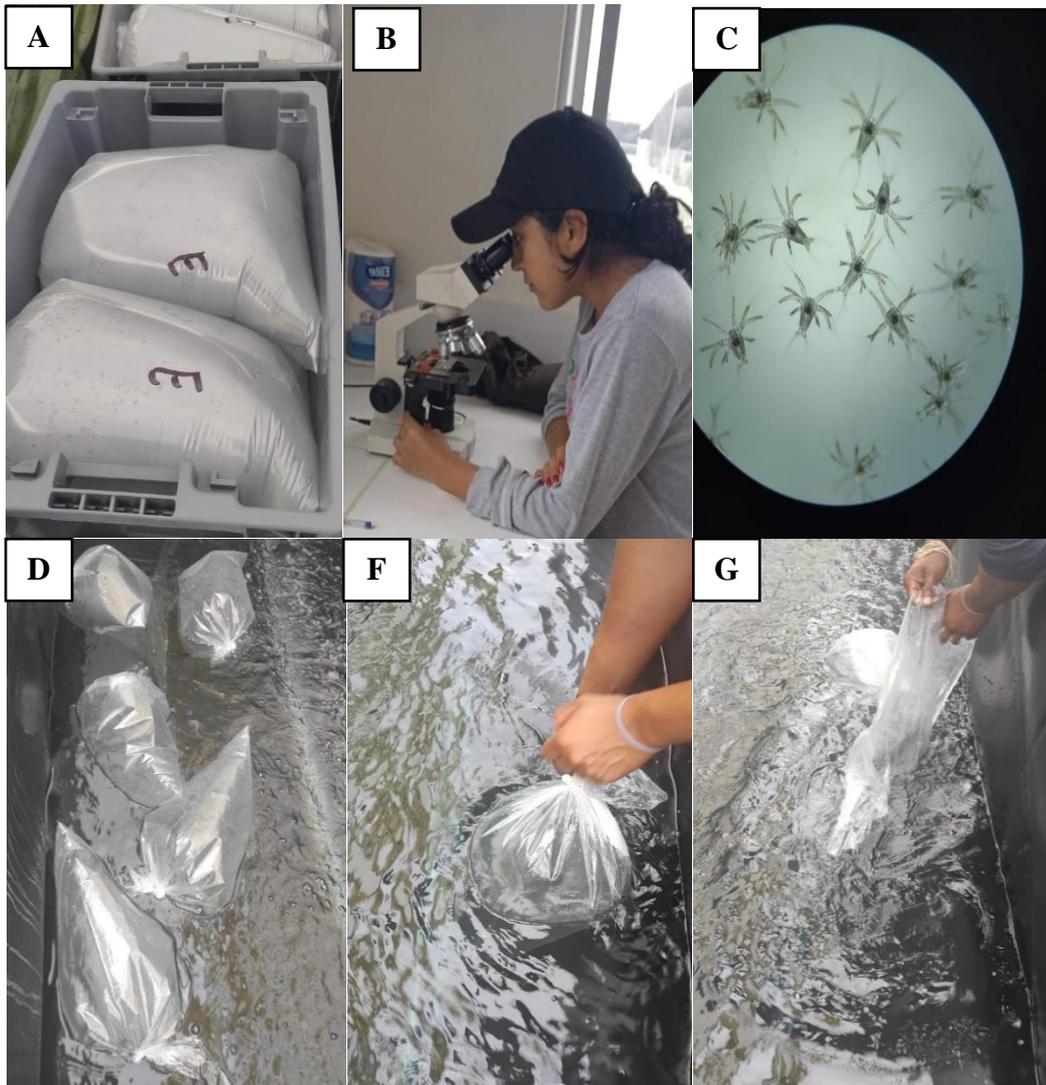


Figura 35. Aclimatación y siembra de nauplios. A, B y C: Recepción y observación del estado de salud de los organismos. D, F y G: aclimatación, desinfección de nauplios con yodo y siembra de los mismos en los tanques productores.



Figura 36. Alimentación. A: Insumos utilizados en la dieta. B: Tabla de alimentación utilizada durante el experimento. C y E: Pesaje y preparación de las dietas, E y F: tamizado del probiótico B antes de la inclusión en el alimento. G: tamizado del Ultra black flake. H y I: Dosificación de artemia y su dieta correspondiente a cada tanque.

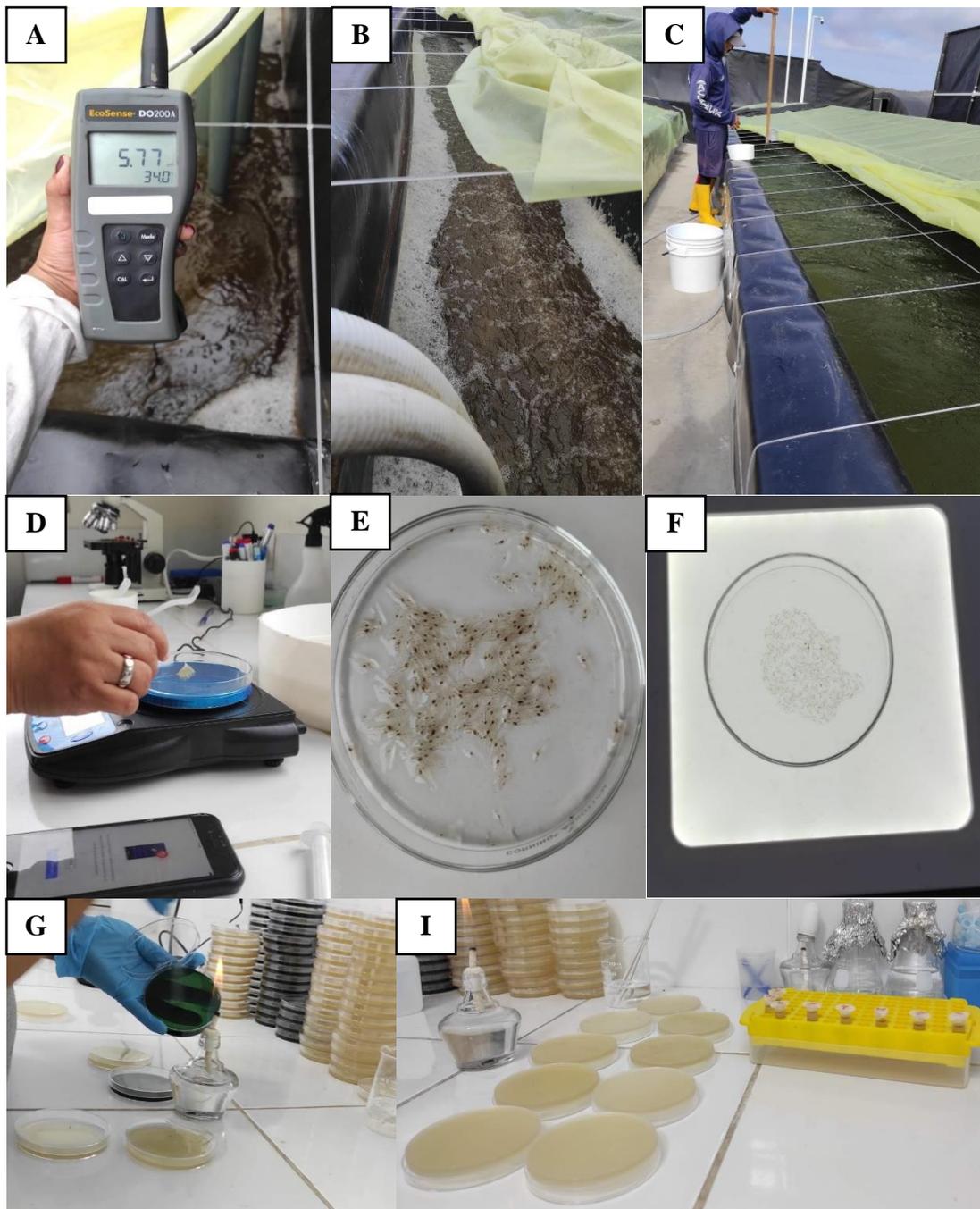


Figura 37. Toma de parámetros de oxígeno disuelto y temperatura (A). Recambio de agua por flujo continuo (B). Conteo de larva por método volumétrico (C). Estimación de uniformidad y longitud promedio por el programa Larvia (D, E y F). Siembra de las muestras en agar TCBS y Chromagar *Vibrio* (G y I).

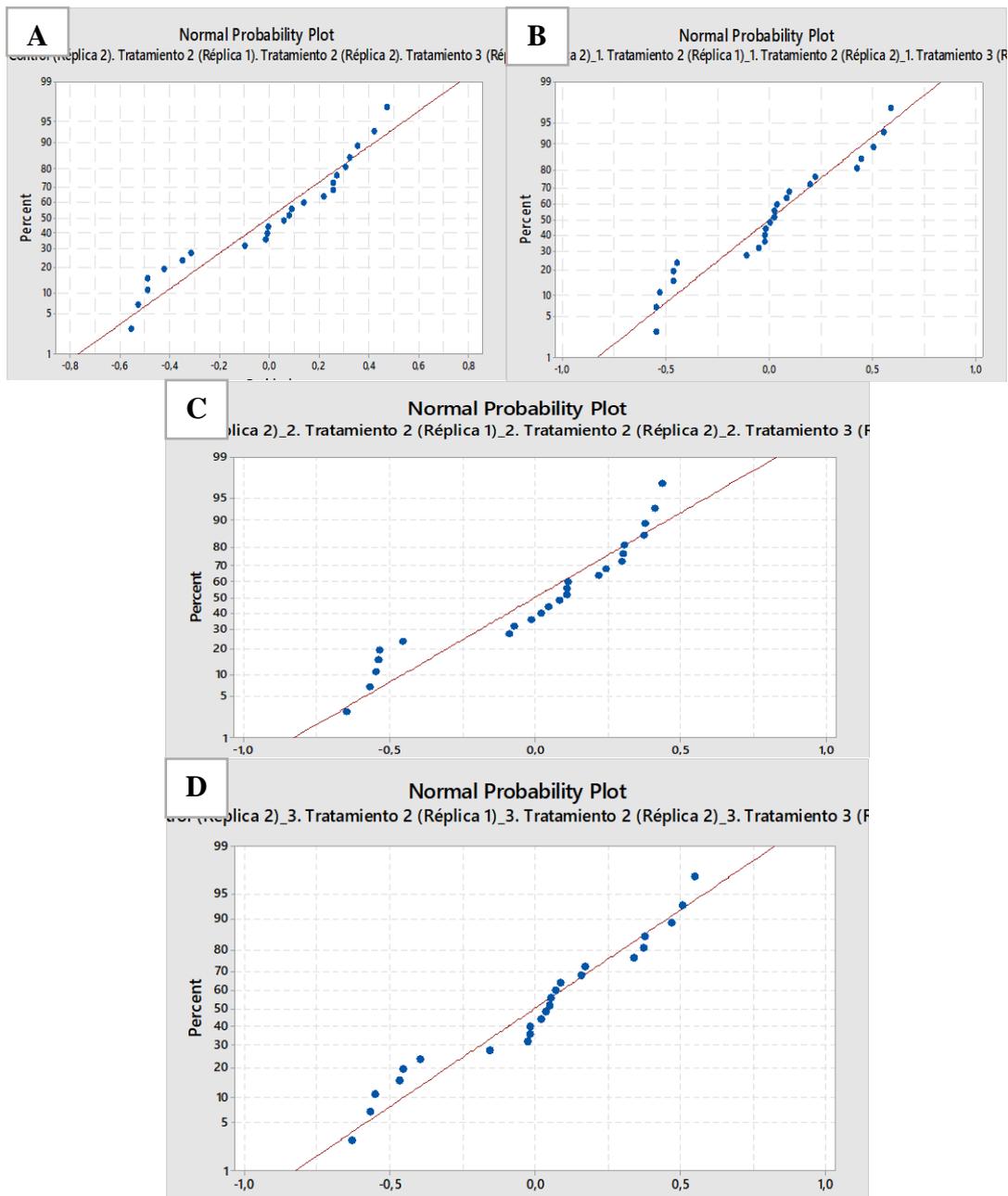


Figura 38. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de A) Salinidad - ciclo 1 de control y tratamientos; B) Salinidad - ciclo 2 de control y tratamientos; C) Salinidad - ciclo 3 de control y tratamientos; D) Salinidad - ciclo 4 de control y tratamientos.

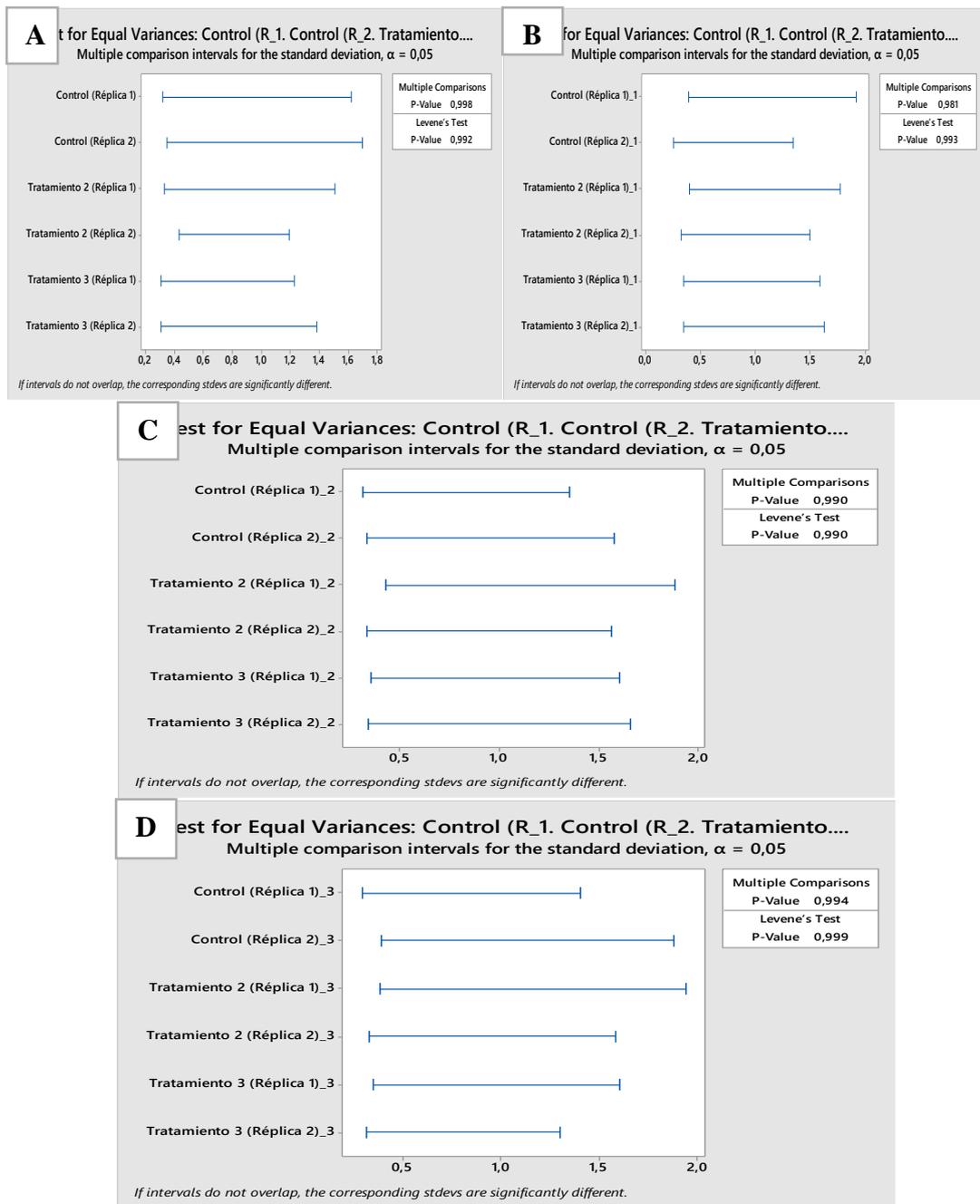


Figura 39. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de Salinidad A) Ciclo 1 de control y tratamientos; B) Ciclo 2 de control y tratamientos; C) Ciclo 3 de control y tratamientos; D) Ciclo 4 de control y tratamientos.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Control (Réplica 1)	4	32,552	A
Control (Réplica 2)	4	32,526	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	32,487	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	32,421	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	32,311	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	32,004	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous Tests for Differences of Means

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,8383	0,1677	1,22	0,341
Error	18	2,4797	0,1378		
Total	23	3,3180			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,371165	25,26%	4,51%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 3 (Réplica 2)_1	4	32,544	A
Control (Réplica 1)_1	4	32,544	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)_1	4	32,528	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)_1	4	32,463	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)_1	4	32,462	A
Control (Réplica 2)_1	4	32,444	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous Tests for Differences of Means

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,04202	0,008404	0,05	0,998
Error	18	2,90666	0,161481		
Total	23	2,94868			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,401847	1,43%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (Réplica 1)_2	4	32,646	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)_2	4	32,567	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)_2	4	32,546	A
Control (Réplica 2)_2	4	32,538	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)_2	4	32,531	A
Control (Réplica 1)_2	4	32,453	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,07735	0,01547	0,10	0,992
Error	18	2,89745	0,16097		
Total	23	2,97480			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,401210	2,60%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (Réplica 1)_3	4	32,629	A
Control (Réplica 2)_3	4	32,568	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)_3	4	32,549	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)_3	4	32,467	A
Control (Réplica 1)_3	4	32,454	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)_3	4	32,393	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous Tests for Differences of Means

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,1509	0,03019	0,19	0,963
Error	18	2,8804	0,16002		
Total	23	3,0314			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,400029	4,98%	0,00%	0,00%

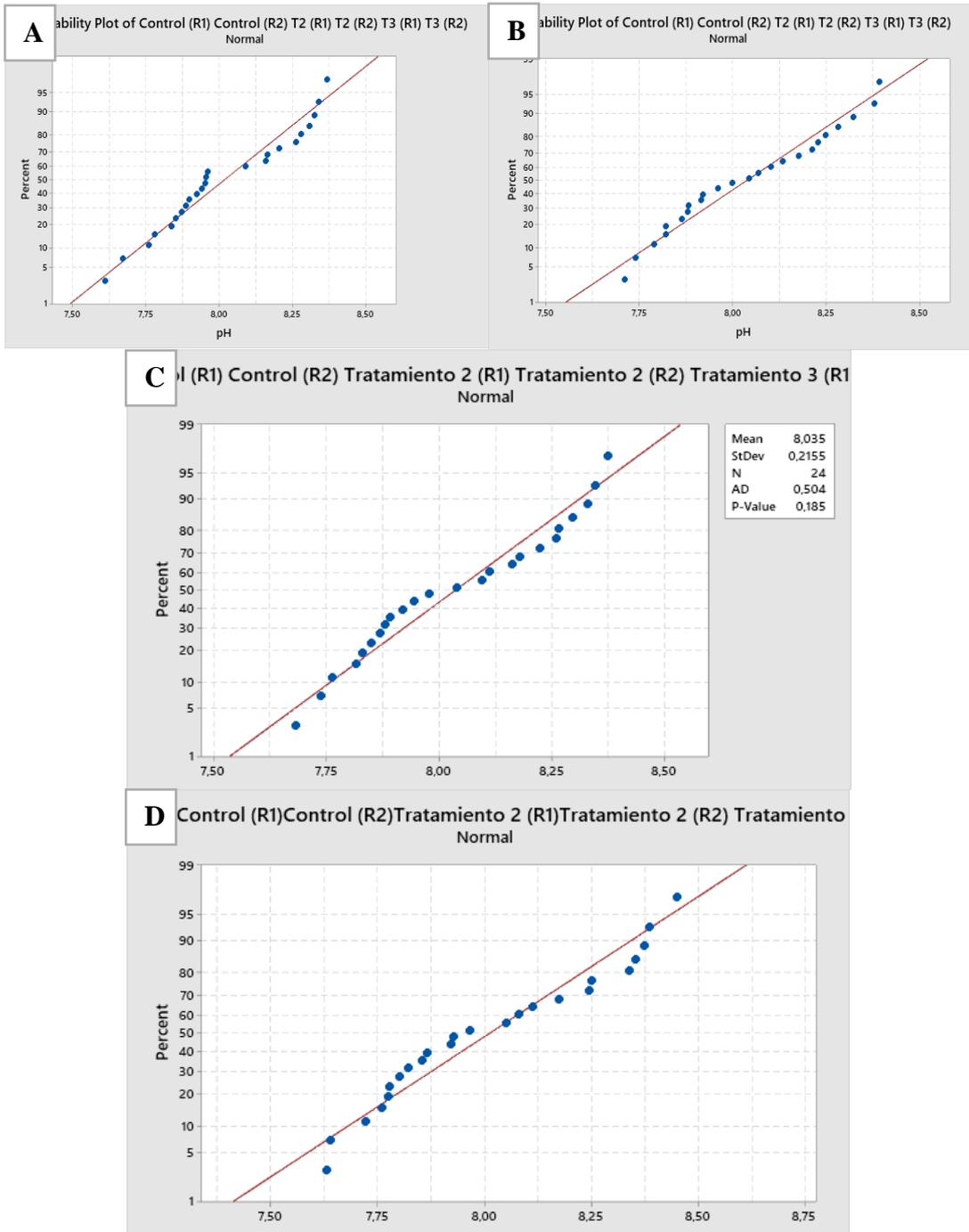


Figura 40. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de A) pH - ciclo 1 de control y tratamientos; B) pH - ciclo 2 de control y tratamientos; C) pH - ciclo 3 de control y tratamientos; D) pH - ciclo 4 de control y tratamientos.

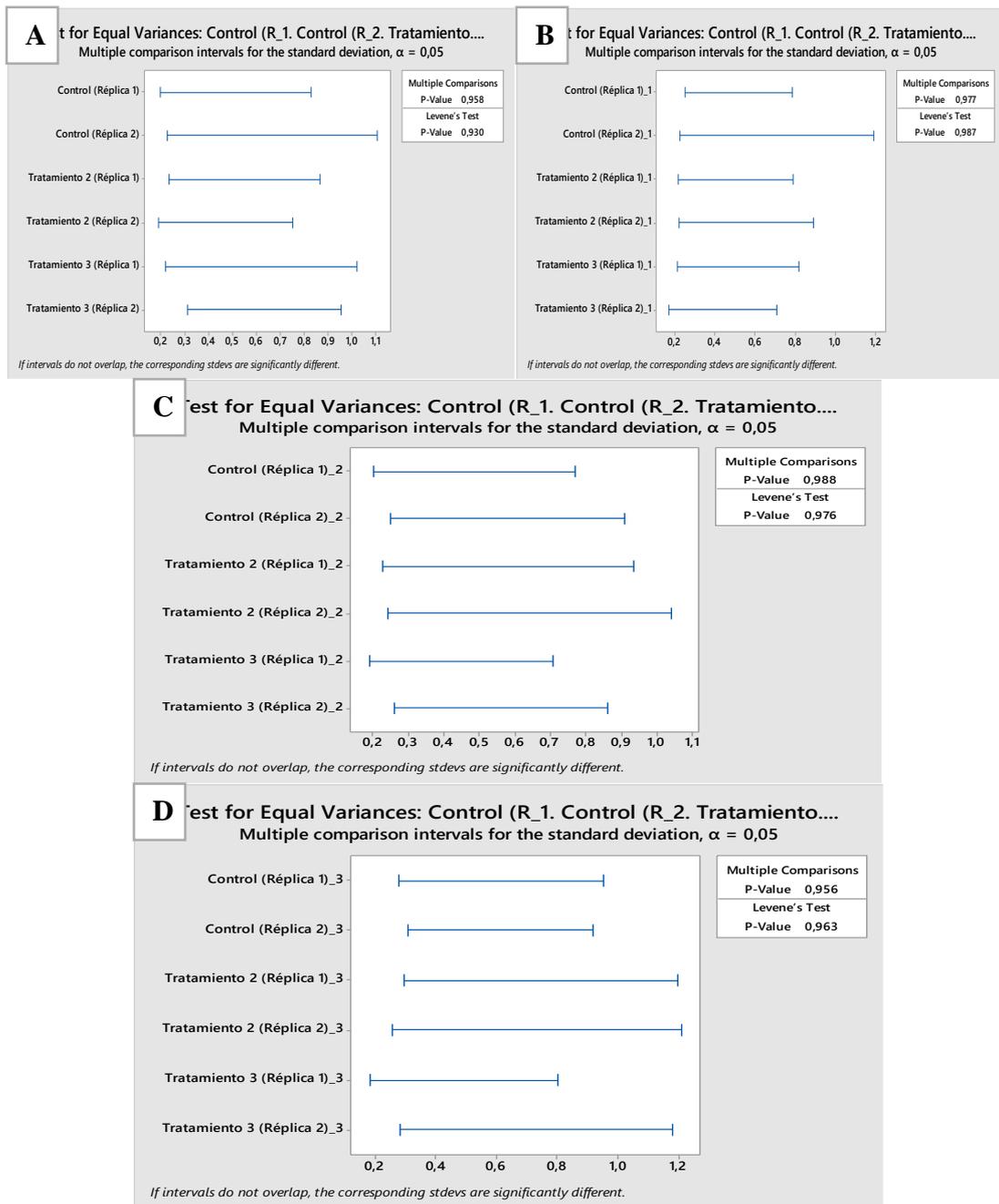


Figura 41. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de pH A) Ciclo 1 de control y tratamientos; B) Ciclo 2 de control y tratamientos; C) Ciclo 3 de control y tratamientos; D) Ciclo 4 de control y tratamientos.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	8,071	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	8,057	A
Control (Réplica 1)	4	8,052	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	8,044	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	7,952	A
Control (Réplica 2)	4	7,929	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,07310	0,01462	0,24	0,939
Error	18	1,09589	0,06088		
Total	23	1,16899			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,246745	6,25%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (Réplica 2)_1	4	8,080	A
Control (Réplica 1)_1	4	8,069	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)_1	4	8,0564	A
Control (Réplica 2)_1	4	8,030	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)_1	4	8,015	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)_1	4	7,974	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,03102	0,006204	0,12	0,987
Error	18	0,96870	0,053817		
Total	23	0,99972			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,231984	3,10%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Control (Réplica 1)_2	4	8,080	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)_2	4	8,0752	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)_2	4	8,037	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)_2	4	8,031	A
Control (Réplica 2)_2	4	8,027	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)_2	4	7,962	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,03619	0,007239	0,13	0,985
Error	18	1,03192	0,057329		
Total	23	1,06811			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,239435	3,39%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 3 (Réplica 1)_3	4	8,090	A
Control (Réplica 2)_3	4	8,078	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)_3	4	8,035	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)_3	4	7,982	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)_3	4	7,959	A
Control (Réplica 1)_3	4	7,923	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,09025	0,01805	0,23	0,947
Error	18	1,43982	0,07999		
Total	23	1,53007			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,282825	5,90%	0,00%	0,00%

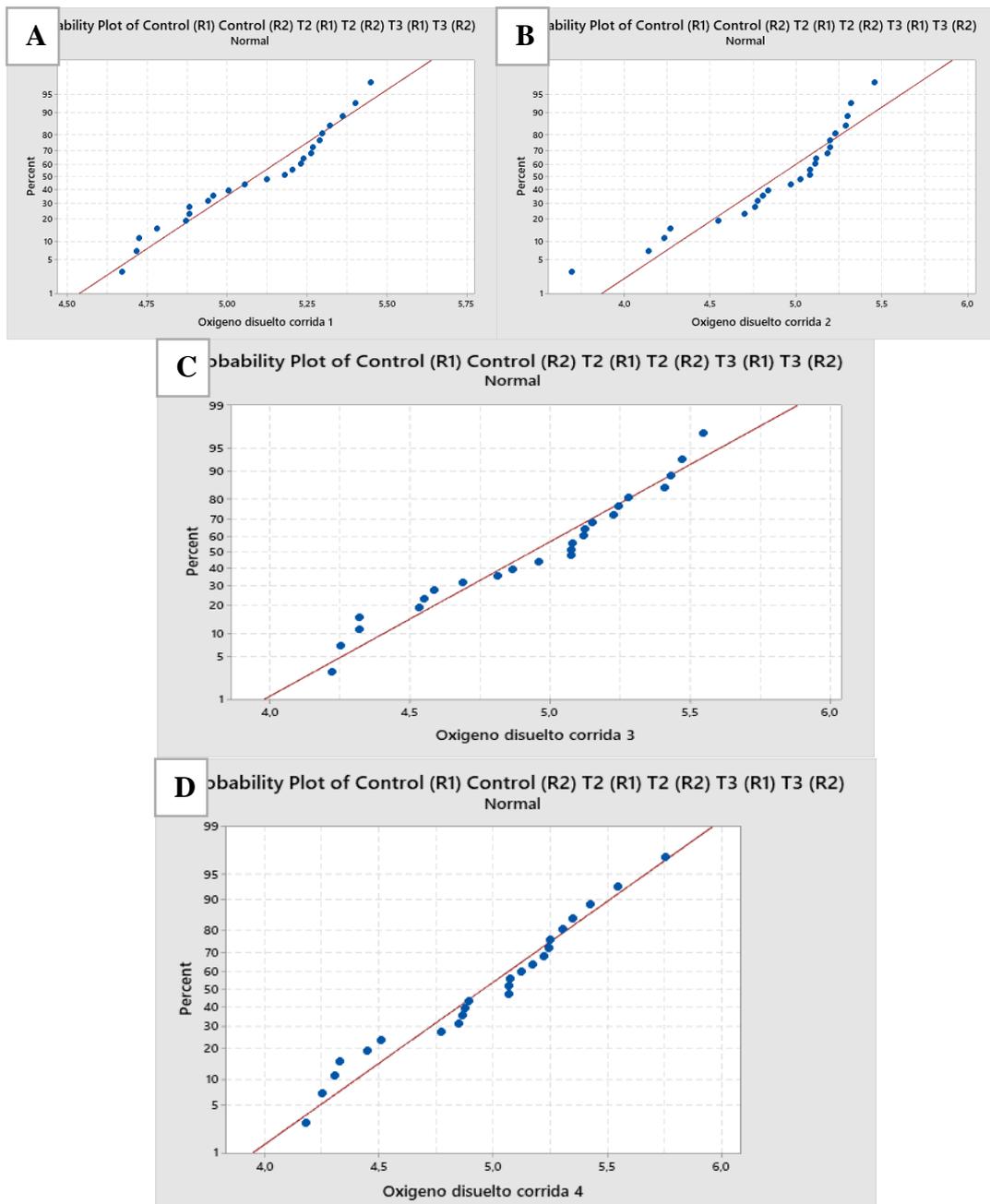


Figura 42. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de A) Oxígeno disuelto - ciclo 1 de control y tratamientos; B) Oxígeno disuelto - ciclo 2 de control y tratamientos; C) Oxígeno disuelto - ciclo 3 de control y tratamientos; D) Oxígeno disuelto - ciclo 4 de control y tratamientos.

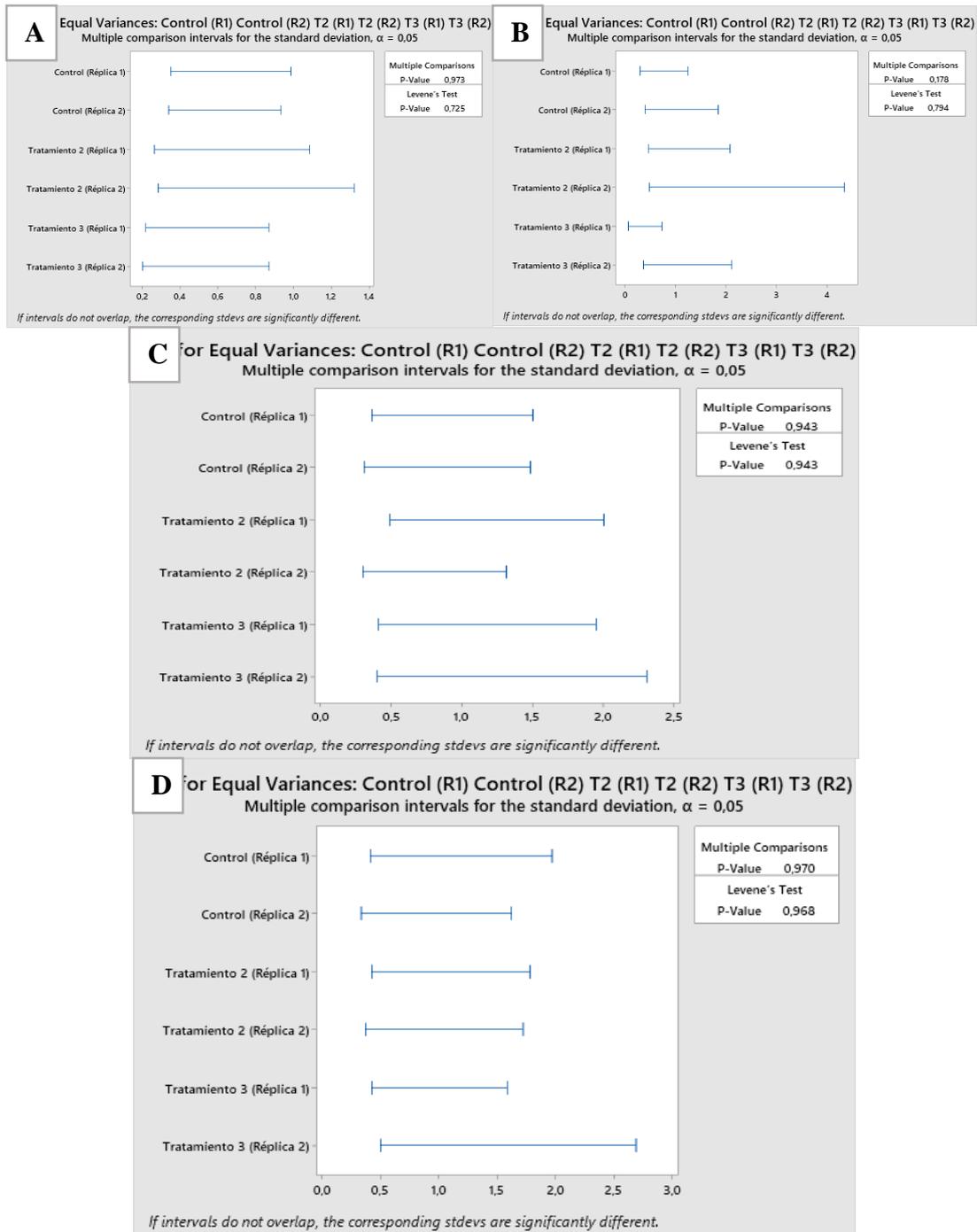


Figura 43. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de Oxígeno disuelto A) Ciclo 1 de control y tratamientos; B) Ciclo 2 de control y tratamientos; C) Ciclo 3 de control y tratamientos; D) Ciclo 4 de control y tratamientos.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	5,164	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	5,138	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	5,097	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	5,026	A
Control (Réplica 2)	4	5,003	A
Control (Réplica 1)	4	4,964	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	0,1266	0,02531	0,31	0,901
Error	18	1,4713	0,08174		
Total	23	1,5979			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,285899	7,92%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	4,971	A
Control (Réplica 1)	4	4,907	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	4,8979	A
Control (Réplica 2)	4	4,860	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	4,860	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	4,839	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	0,04531	0,009061	0,04	0,999
Error	18	4,39341	0,244078		
Total	23	4,43871			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,494043	1,02%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Control (Réplica 2)	4	5,024	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	4,992	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	4,984	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	4,982	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	4,899	A
Control (Réplica 1)	4	4,705	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	0,2797	0,05595	0,28	0,917
Error	18	3,5812	0,19896		
Total	23	3,8610			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,446047	7,25%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamientos	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	5,078	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	5,004	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	4,971	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	4,939	A
Control (Réplica 2)	4	4,888	A
Control (Réplica 1)	4	4,857	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	0,1285	0,02570	0,11	0,988
Error	18	4,1607	0,23115		
Total	23	4,2892			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,480780	3,00%	0,00%	0,00%

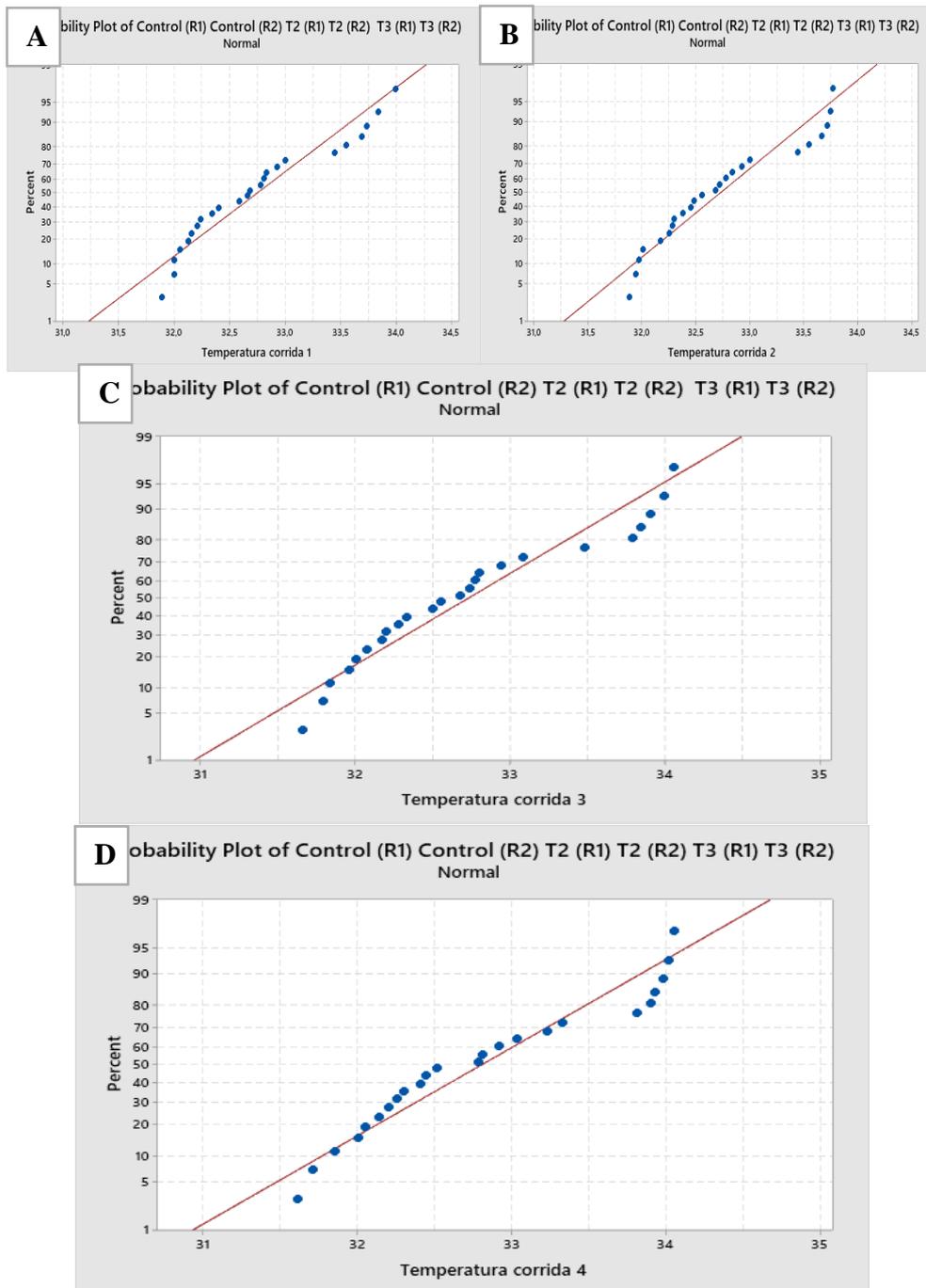


Figura 44. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de A) Temperatura - ciclo 1 de control y tratamientos; B) Temperatura - ciclo 2 de control y tratamientos; C) Temperatura - ciclo 3 de control y tratamientos; D) Temperatura - ciclo 4 de control y tratamientos.

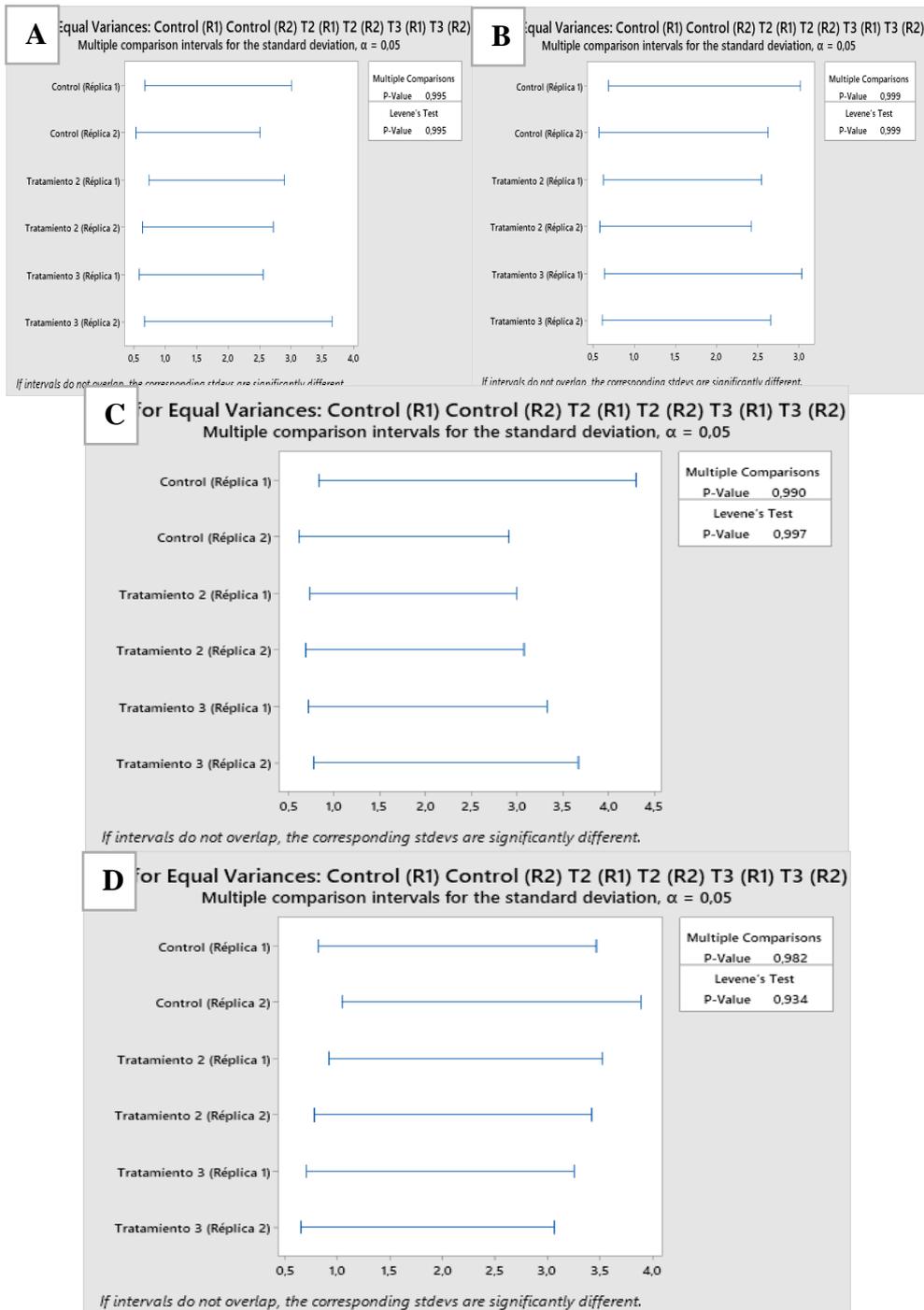


Figura 45. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de Temperatura A) Ciclo 1 de control y tratamientos; B) Ciclo 2 de control, T2, T3 y sus réplicas; C) Ciclo 3 de control y tratamientos; D) Ciclo 4 de control y tratamientos.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Control (Réplica 1)	4	32,875	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	32,788	A
Control (Réplica 2)	4	32,750	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	32,730	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	32,719	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	32,630	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	0,1312	0,02624	0,05	0,998
Error	18	9,6851	0,53806		
Total	23	9,8163			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,733526	1,34%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	32,852	A
Control (Réplica 2)	4	32,823	A
Control (Réplica 1)	4	32,780	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	32,670	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	32,635	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	32,623	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	0,2010	0,04019	0,08	0,994
Error	18	8,7719	0,48733		
Total	23	8,9729			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,698090	2,24%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	32,907	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	32,782	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	32,752	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	32,742	A
Control (Réplica 1)	4	32,670	A
Control (Réplica 2)	4	32,505	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	0,3563	0,07127	0,10	0,991
Error	18	12,9760	0,72089		
Total	23	13,3323			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,849052	2,67%	0,00%	0,00%

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tratamientos	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	32,870	A
Control (Réplica 1)	4	32,825	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	32,823	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	32,780	A
Control (Réplica 2)	4	32,773	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	32,745	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	0,0407	0,008140	0,01	1,000
Error	18	14,8662	0,825897		
Total	23	14,9069			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,908789	0,27%	0,00%	0,00%

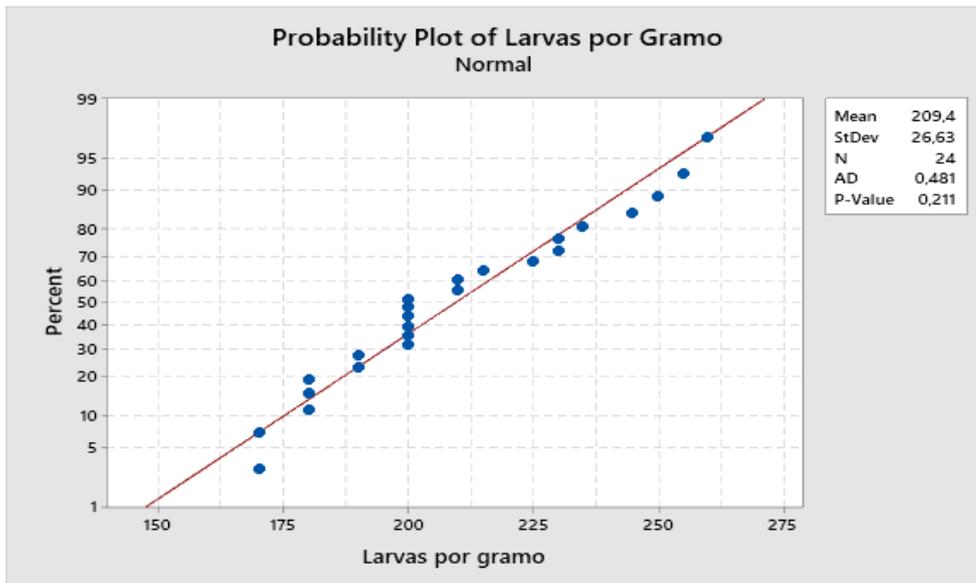


Figura 46. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de larvas por gramo de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

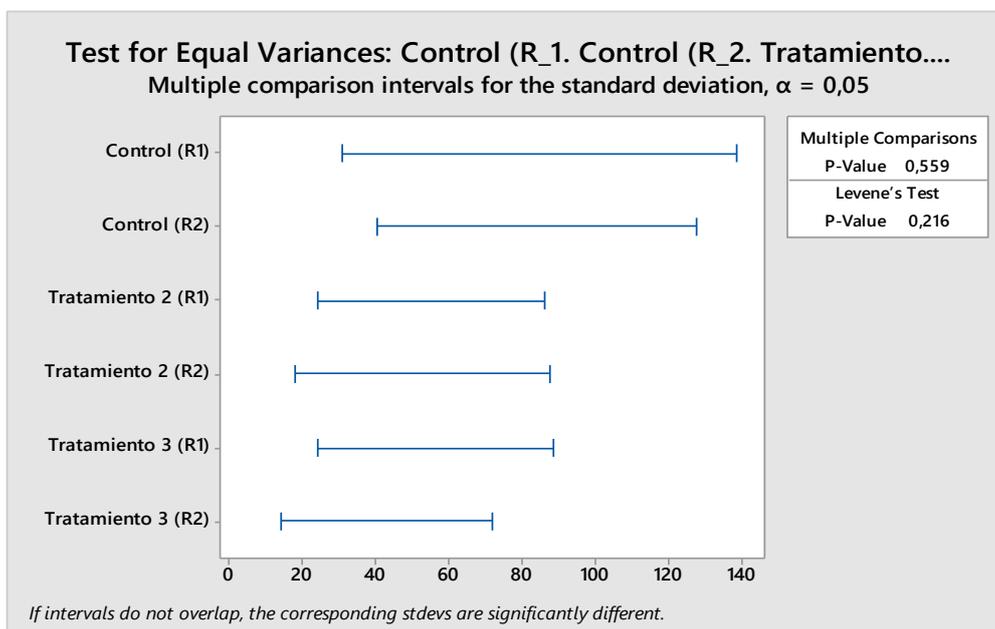


Figura 47. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de larvas por gramo de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (R1)	4	220,0	A
Control (R1)	4	217,5	A
Tratamiento 2 (R2)	4	213,8	A
Control (R2)	4	212,5	A
Tratamiento 3 (R1)	4	200,0	A
Tratamiento 3 (R2)	4	192,50	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	2322	464,4	0,60	0,703
Error	18	13994	777,4		
Total	23	16316			

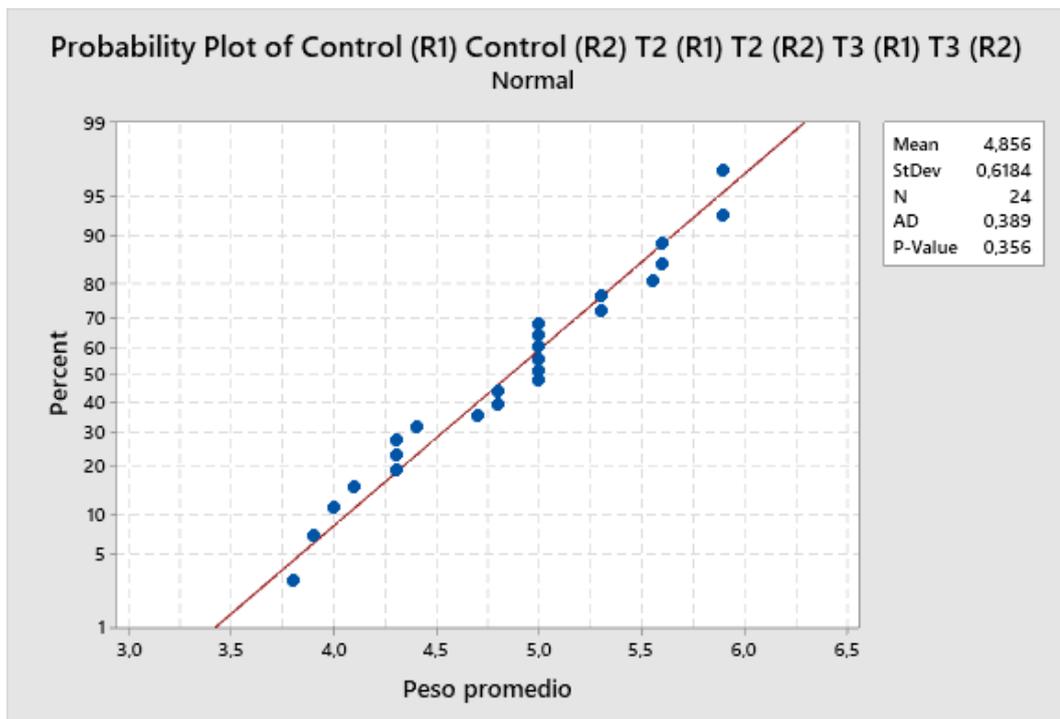


Figura 48. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de peso promedio de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

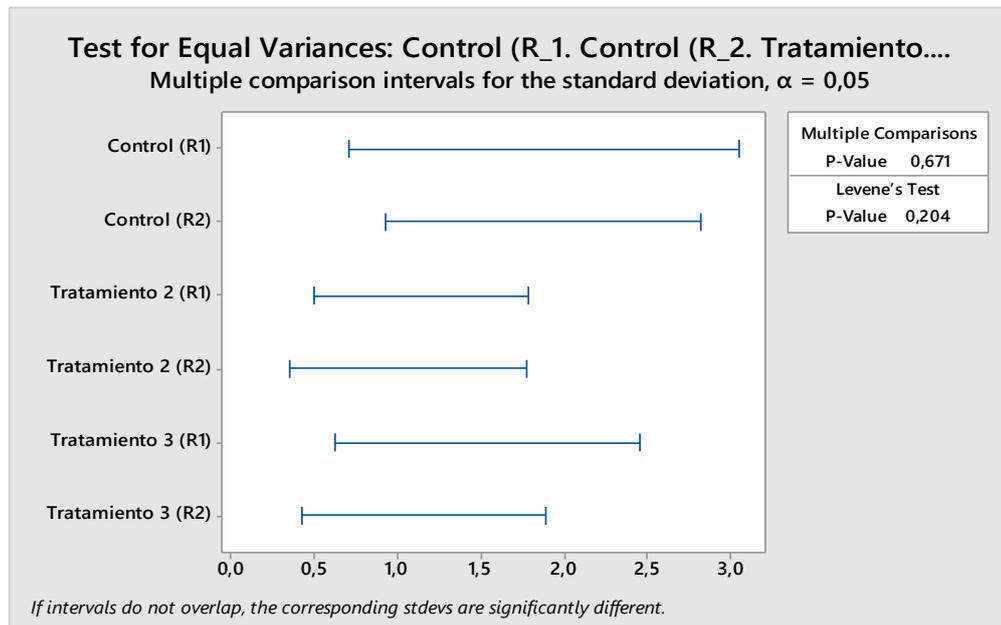


Figura 49. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de peso promedio de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 3 (R2)	4	5,250	A
Tratamiento 3 (R1)	4	5,075	A
Control (R2)	4	4,839	A
Tratamiento 2 (R2)	4	4,725	A
Control (R1)	4	4,675	A
Tratamiento 2 (R1)	4	4,575	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	1,329	0,2659	0,64	0,671
Error	18	7,465	0,4147		
Total	23	8,794			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,643981	15,12%	0,00%	0,00%

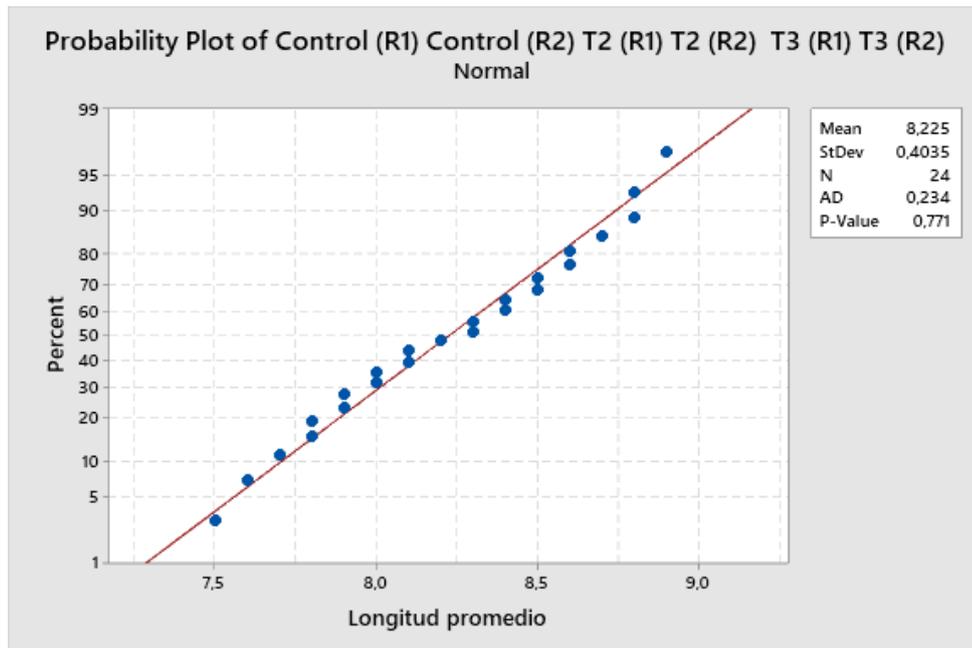


Figura 50. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de longitud promedio final de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

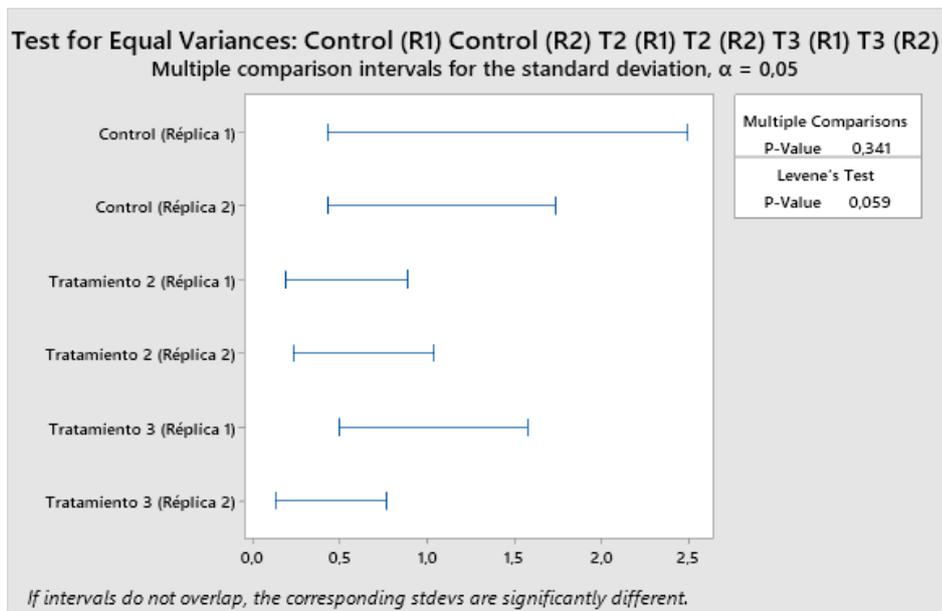


Figura 51. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de longitud promedio final de control, tratamiento 2, tratamiento 3.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 3 (R2)	4	8,575	A
Tratamiento 3 (R1)	4	8,400	A
Control (R2)	4	8,175	A
Tratamiento 2 (R2)	4	8,150	A
Control (R1)	4	8,125	A
Tratamiento 2 (R1)	4	7,925	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	1,045	0,2090	1,39	0,273
Error	18	2,700	0,1500		
Total	23	3,745			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,387298	27,90%	7,88%	0,00%

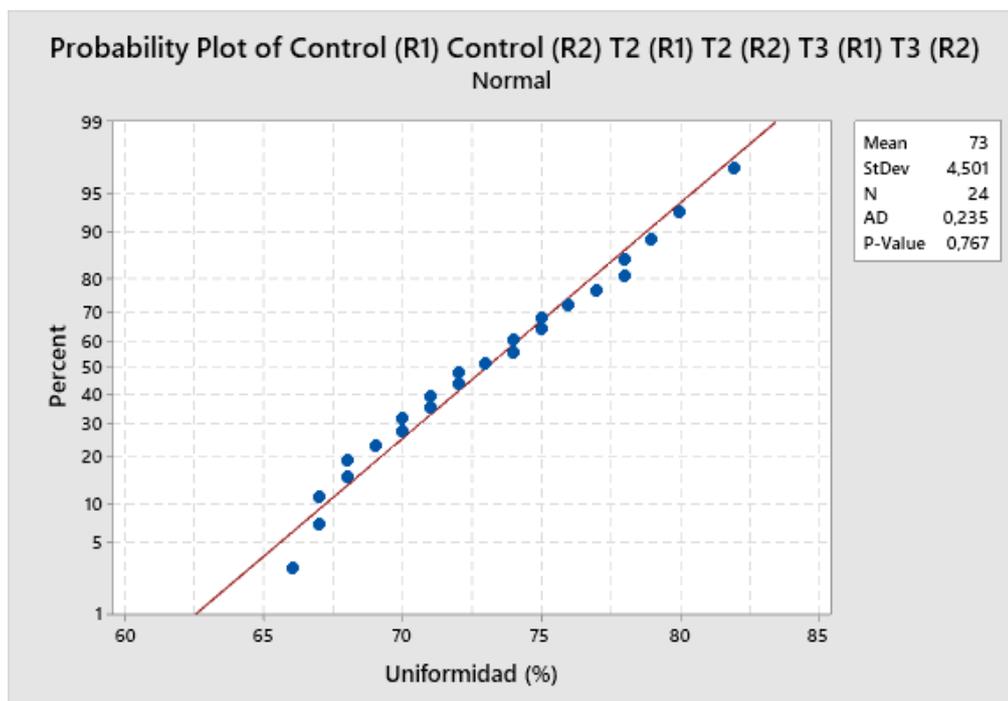


Figura 52. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de uniformidad (%) de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

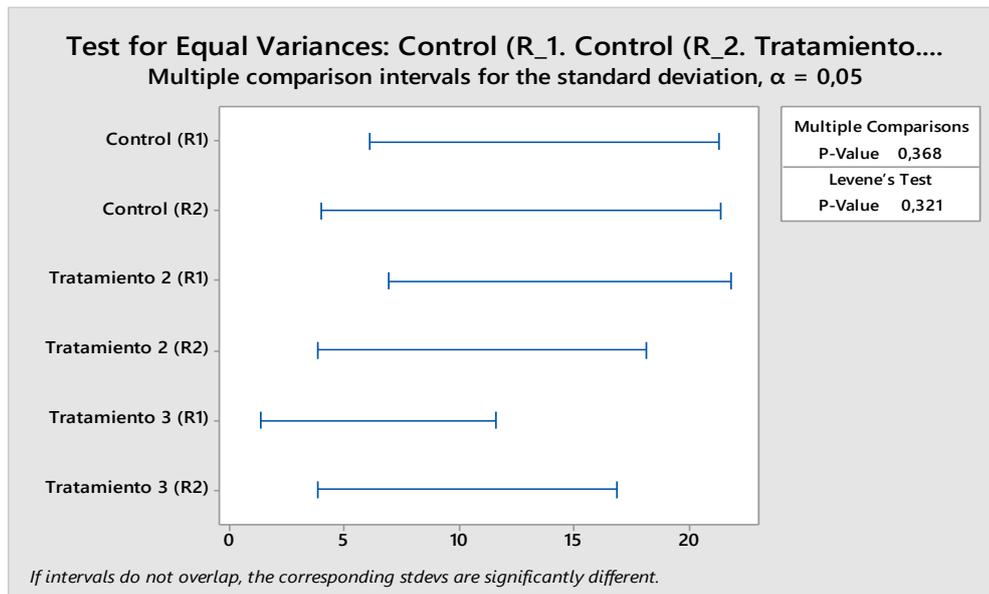


Figura 53. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de uniformidad por ciclo de control, tratamiento 2, tratamiento 3.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 2 (R1)	4	74,50	A
Tratamiento 3 (R2)	4	73,25	A
Control (R2)	4	73,25	A
Tratamiento 2 (R2)	4	72,50	A
Control (R1)	4	72,50	A
Tratamiento 3 (R1)	4	72,00	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	15,50	3,100	0,12	0,985
Error	18	450,50	25,028		
Total	23	466,00			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
5,00278	3,33%	0,00%	0,00%

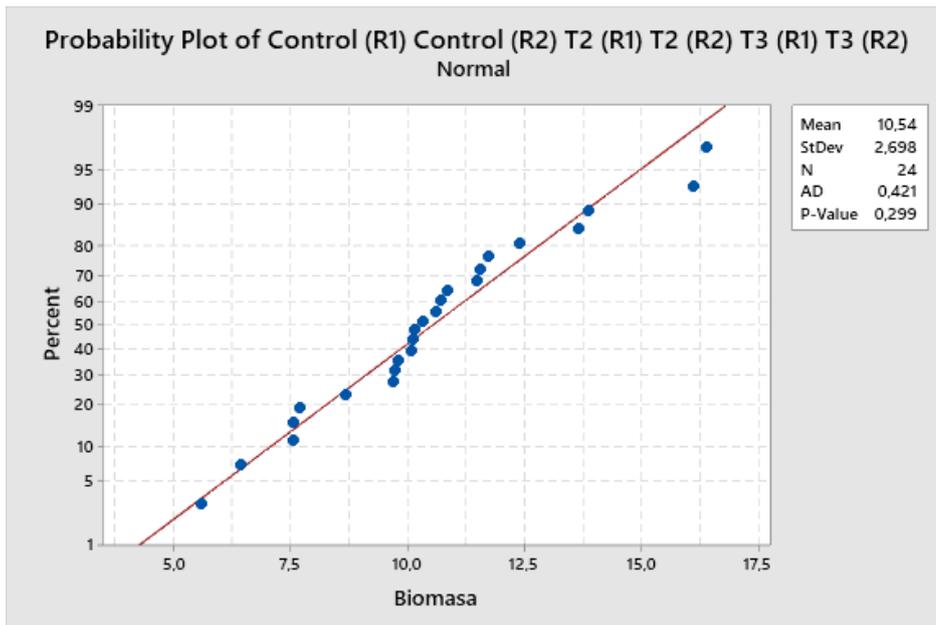


Figura 54. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de biomasa de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

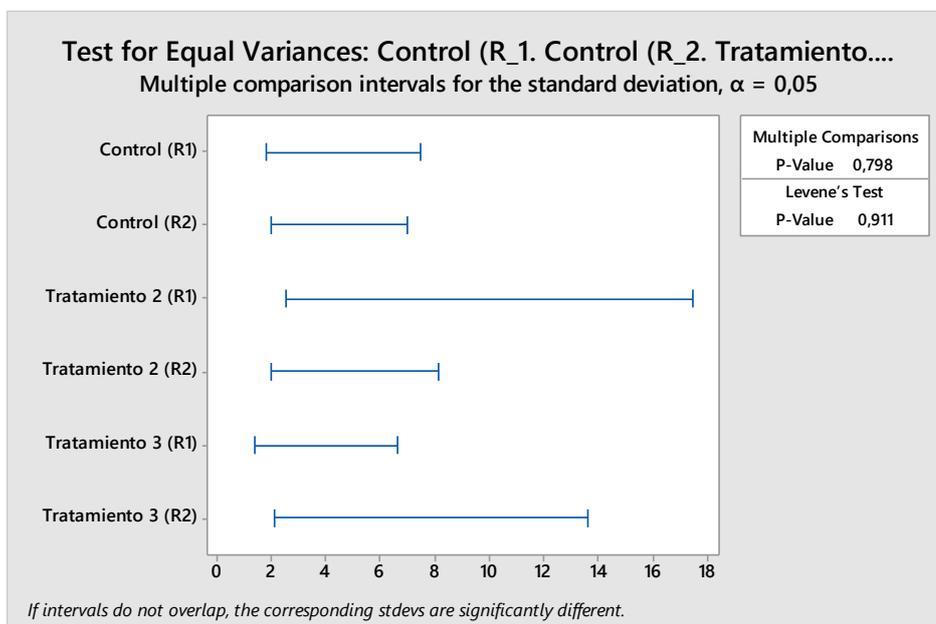


Figura 55. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de biomasa de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 3 (R2)	4	12,20	A
Tratamiento 3 (R1)	4	11,822	A
Tratamiento 2 (R1)	4	11,44	A
Tratamiento 2 (R2)	4	10,89	A
Control (R2)	4	8,66	A
Control (R1)	4	8,202	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	57,33	11,466	1,87	0,149
Error	18	110,10	6,116		
Total	23	167,42			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2,47314	34,24%	15,97%	0,00%

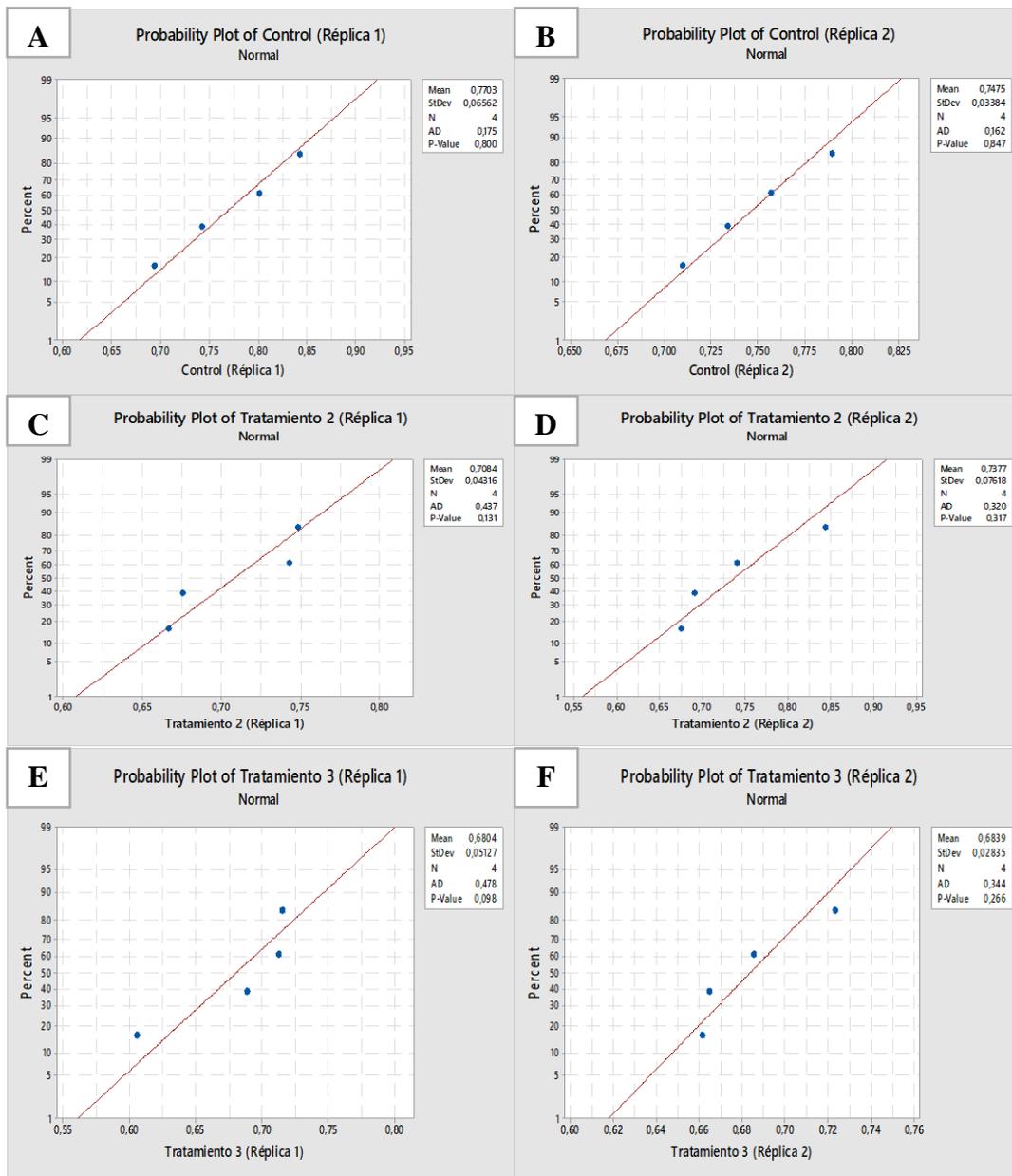


Figura 56. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de A y B) Factor de conversión alimenticia de control; C y D) F.C.A de Tratamiento 2; E y F) F.C.A de Tratamiento 3.

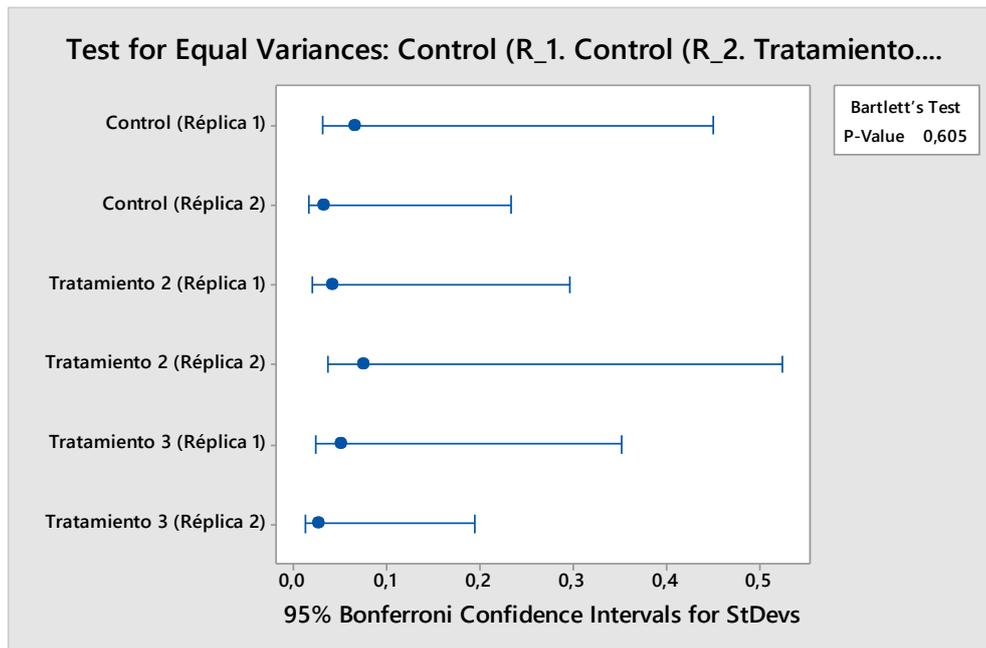


Figura 57. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Bartlett) a los valores de Factor conversión alimenticia de control (R1 y R2), tratamiento 2 (R1 y R2) y tratamiento 3 (R1 y R2).

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Control (Réplica 1)	4	0,7703	A
Control (Réplica 2)	4	0,7475	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	0,7377	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	0,7084	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	0,6839	A
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	0,6804	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance							
Source	DF	Seq SS	Contribution	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	5	0,02639	34,71%	0,02639	0,005278	1,91	0,142
Error	18	0,04965	65,29%	0,04965	0,002758		
Total	23	0,07604	100,00%				

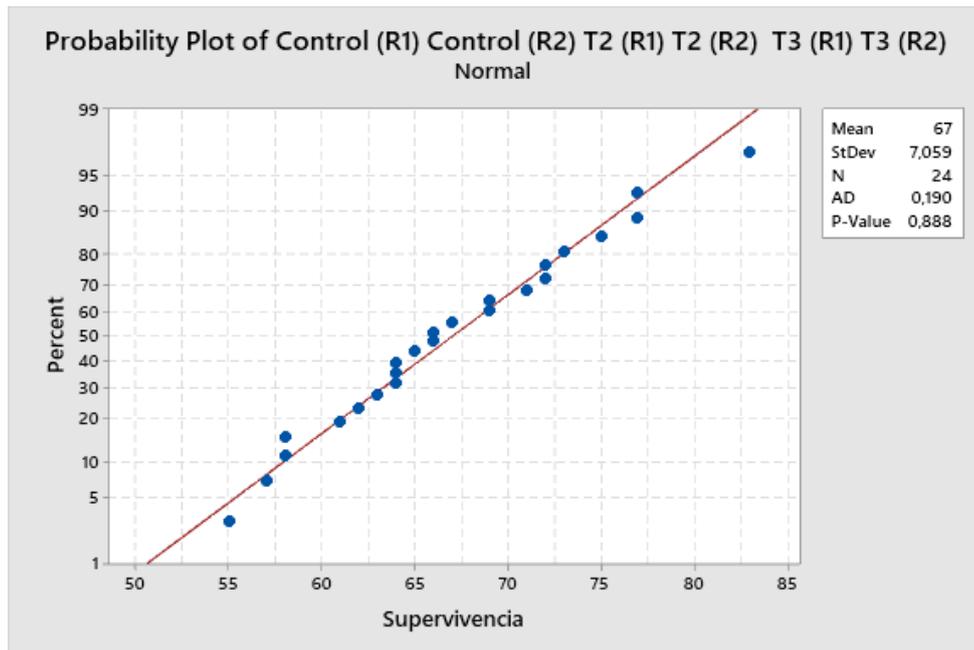


Figura 58. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos de supervivencia de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

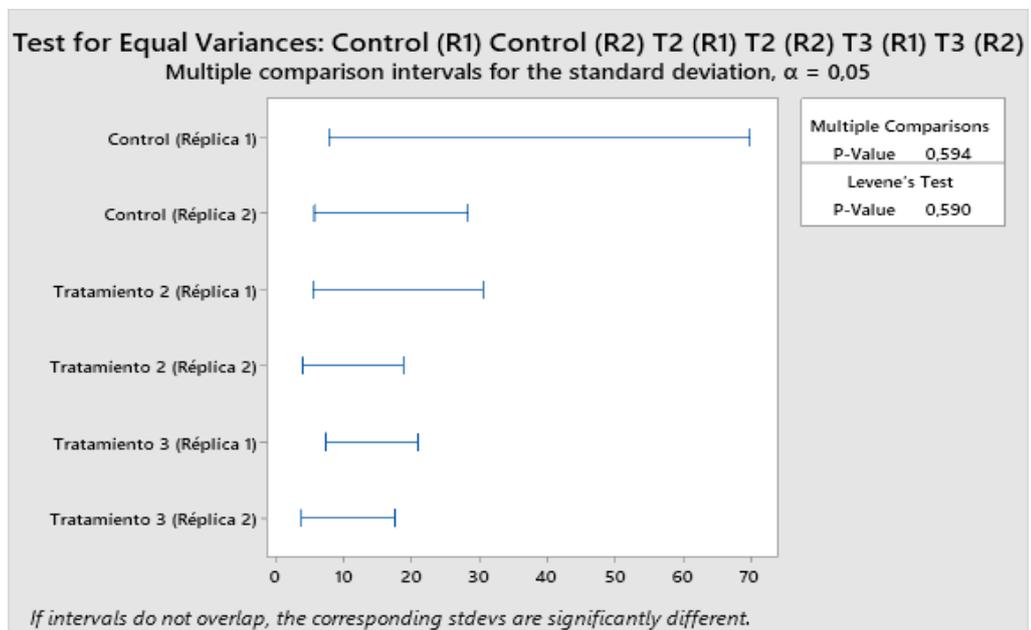


Figura 59. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de supervivencia de control, tratamiento 2, tratamiento 3 y sus réplicas.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Tratamiento 3 (Réplica 1)	4	70,25	A
Tratamiento 3 (Réplica 2)	4	68,75	A
Tratamiento 2 (Réplica 1)	4	67,25	A
Control (Réplica 2)	4	67,25	A
Control (Réplica 1)	4	65,50	A
Tratamiento 2 (Réplica 2)	4	63,00	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamientos	5	128,0	25,60	0,45	0,806
Error	18	1018,0	56,56		
Total	23	1146,0			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
7,52034	11,17%	0,00%	0,00%

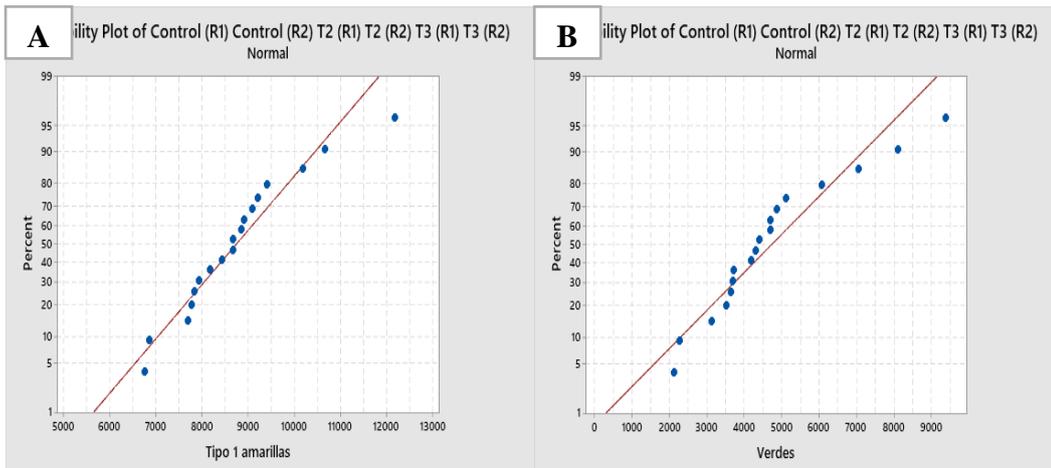


Figura 60. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los datos A) carga bacteriana de colonias amarillas de control y tratamientos; B) colonias verdes de control y tratamientos.

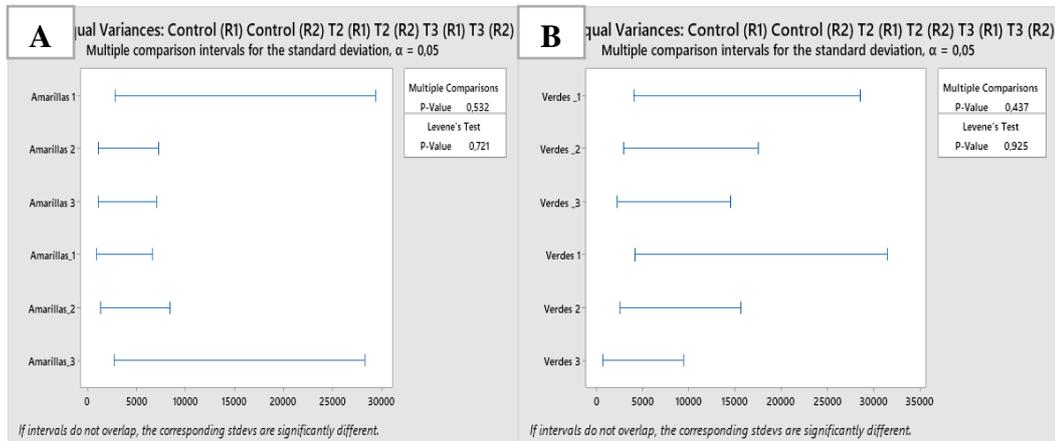


Figura 61. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de A) carga bacteriana de colonias amarillas de control y tratamientos; B) colonias verdes de control y tratamientos.

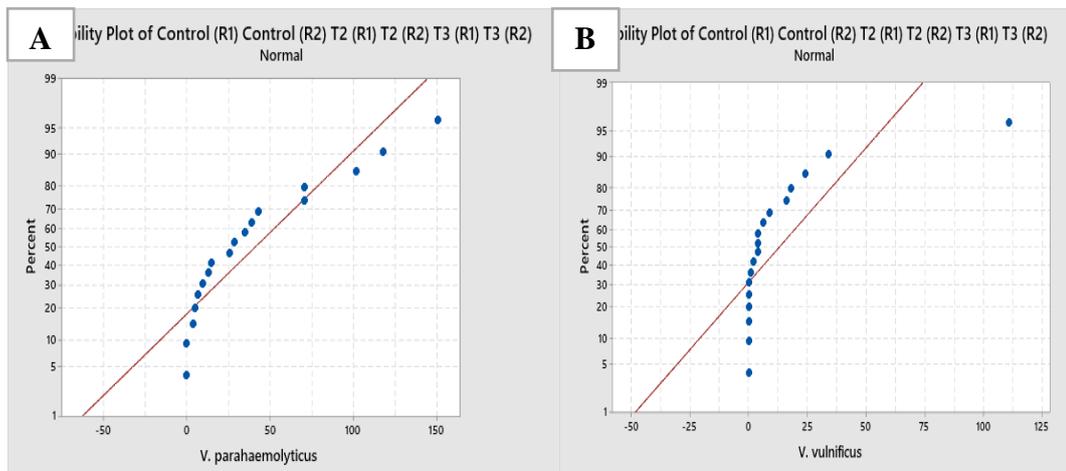


Figura 62. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los resultados de la carga bacteriana de A) *V. parahaemolyticus* de control y tratamientos; B) *V. vulnificus* de control y tratamientos.

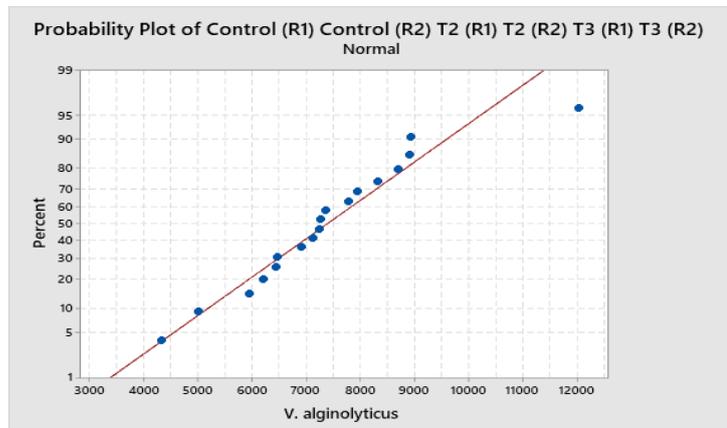


Figura 63. Prueba de normalidad de Anderson – Darling aplicada a los resultados de la carga bacteriana del *V. alginolyticus* de control, T2, T3 y sus réplicas.

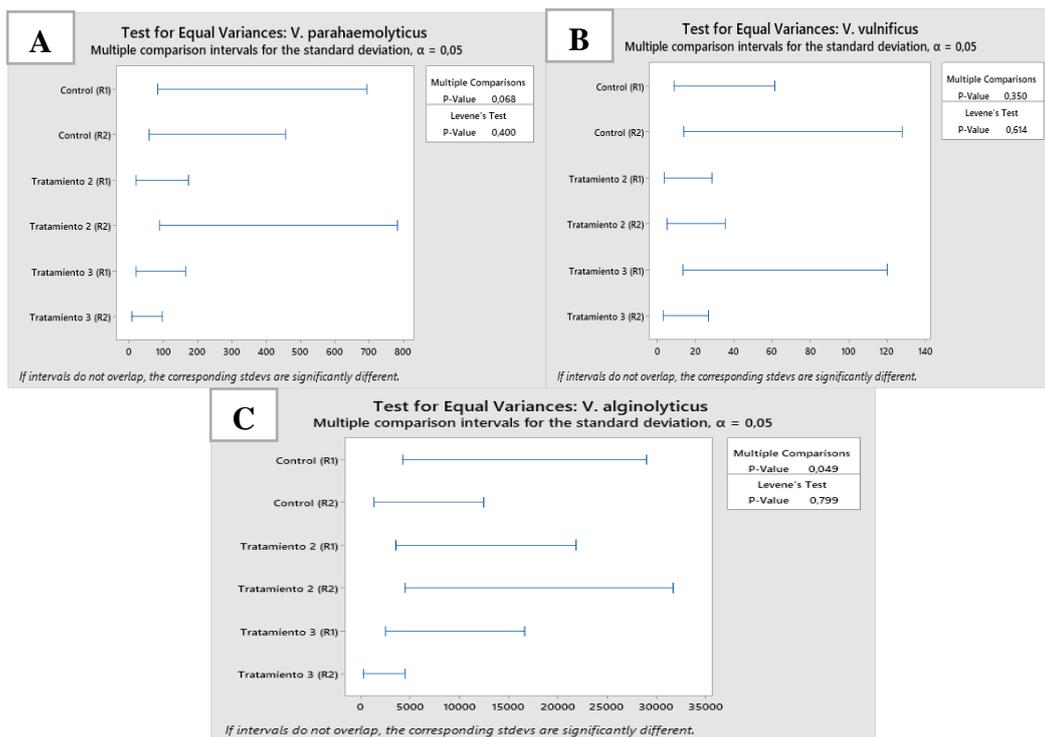


Figura 64. Prueba de igualdad de varianzas (homocedasticidad de Levene) a los valores de la carga bacteriana de A) *V. parahaemolyticus* de control y tratamientos; B) *V. vulnificus* de control y tratamientos; C) *V. alginolyticus* de control y tratamientos.

PROBLEMÁTICA

En Ecuador el cultivo de *Litopenaeus vannamei* es uno de los principales rubros económicos no petroleros, con un crecimiento cada vez más intensivo la cual responde a un largo proceso de ajuste del sistema de producción, especialmente los que inciden en el volumen producción como el área de nutrición y manejo de los cultivos. Sin embargo, a pesar de las altas producciones en los últimos años, el riesgo de ocurrencia de enfermedades virales y bacterianas, así como problemas ambientales, estado de salud del organismo y calidad del agua siguen siendo altos. El brote de enfermedades es una de las principales dificultades que ha tenido que enfrentarse la camaronicultura especialmente la fase de larvicultura, en los sistemas de producción muchos patógenos potenciales como protozoarios, bacterias, hongos y virus coexisten con el camarón sin causar un impacto negativo en el cultivo. No obstante, algunas infecciones inactivas pueden desarrollarse en brotes de enfermedades virales o bacterianas por factores como el estrés, aumentos en las densidades de cultivo, deficiencias en los métodos de manejo, mala calidad del agua por el exceso de materia orgánica, valor nutricional del alimento, entre otros factores. La influencia negativa de estos factores mencionados afecta el sistema inmunológico del camarón, crecimiento, supervivencia, tasa conversión alimenticia entre otros, los cuales desencadenan a una alta tasa de mortalidad. Una de las estrategias que se ha estado utilizando para contrarrestar la presencia de estas patologías, se enfoca al empleo de probióticos, que son considerados como productos eco amigables. En la actualidad existe una gran variedad de productos comerciales, que pueden ser suministrados en la dieta, sin embargo, por la aplicación de concentraciones altas o bajas, el manejo y modo de aplicación del probiótico de forma empírica, o por la incapacidad del probiótico de mantener su fisiología bajo condiciones físicas y químicas que se presentan en el tracto intestinal del hospedero, se han provocado controversias sobre su efectividad. En base a lo anterior, se ha visto la necesidad de analizar la inclusión de estos dos probióticos en la dieta de la fase larvaria de *L. vannamei*, el primero a base del género *Bacillus* y el segundo de una combinación simbiótica (*Bacillus* spp. más prebióticos), para determinar su beneficio en la producción, debido a que el uso de probióticos eficientes incrementa las probabilidades de una mejor producción.

Figura 65. Problemática planteada de la investigación

Anexo 1. Protocolo de manejo utilizado durante la investigación en el Laboratorio.

Protocolo de manejo utilizado durante la investigación en el Laboratorio				
	Proceso	Descripcion	Proceso	Descripcion
Tratamiento del agua y de los tanques antes de la siembra	1. Lavado y desinfección del reservorio	Los operarios ingresan al reservorio	2. Llenado del reservorio	Antes del llenado del reservorio: Se coloca dos bolsos de filtración de 5 µm en la tubería de entrada de agua salada.
		Con la ayuda de una manguera a presión se remoja con agua dulce las paredes del reservorio.		
		Se procede a refregar con una escoba todo el reservorio para la limpieza y desinfección.		Se deja llenando a 400 toneladas métricas.
		Luego se enjuaga con agua dulce.		
		Finalmente se bombea toda el agua residual y se procede a pasar hipoclorito de Sodio (3 ml/litro) por todo el reservorio.		
	3. Tratamiento del agua de reservorio	Una vez lleno los reservorios se aplica hipoclorito de Sodio 40 ml de cloro por TM.	4. Llenado de tanques para siembra en Módulo	En la mañana antes del llenado de los TQ se coloca dos bolsos de filtración de 1 micra en la tubería de entrada de agua, en el primer bolso de filtración se coloca una bolsa pequeña de carbón activado el cual esta previamente lavado con agua dulce.
		Se procede a recircular el agua, el cual pasa el agua por un sistema de desinfección por ozono y por grava durante 3 días.		Posteriormente se llena los tanques a un volumen de 10 a 13 toneladas de agua, con 30,5 °C y a 32 ppm de salinidad.
		Luego se procede a declorinar con 1 gr de Thiosulfato de Sodio, además se adiciona 1 gr de Vitamina C, 15 gr de EDTA y 10 gr de Cal P-24 por TM.		Una vez llenos los TQ, se cubren con un plástico invernadero para mantener la temperatura interna, y por la tarde se coloca 1 gr de vitamina C por TM, 2 ppm de magnesio y 1 ppm de potasio por TM.
		Un día antes del llenado de los TQS se apaga la recirculación del agua.		Se sube la temperatura a 31,5 °C para la siembra.
	Procedimiento para la siembra	1. Aclimatación	Se transportan los nauplios de la maduración de Texcumar en las primeras horas de la mañana.	2. Siembra
Posteriormente se colocan las fundas selladas en el agua de cada tanque y se espera un transcurso de 20 minutos para equilibrar la temperatura.			El nivel de agua se fue incrementando según el desarrollo del organismo hasta 25 toneladas, con el que se manejó a partir de mysis III hasta final del cultivo.	
Transcurrido el tiempo se agrega a cada funda 10 ml de disolución de yodo por 2 minutos para la desinfección de los nauplios.				

Alimentación, Manejo, Frecuencia de alimentación y Recambio de agua	1. Insumos utilizados en la dieta	Los alimentos que se utilizaron durante la corrida fueron: Epeffed LHF 1, LHF 2, Espirulina, Liqualife ZM, Liqualife MPL, Liqualife PL, Algamac, Neoshrimp, Larviva Zoea (0 – 70 micras), Larviva Mysis (75 – 150 micras), Larviva PL200 (150 – 250 micras), Larfeed 150 - 300, Advance Feed 2, Advance Feed 3, Ultra black flake, EZ artemia además de Vitaminas (Prokura, Vitamina C y BioPepsil) y Adición de otros elementos (Carbonato de Calcio, Peróxido, CalP-24, Lictobac L, Aminolab, Biofast).	2. Dosificación de alimento	La dosificación de alimentación se obtuvo por la biomasa del tanque, además se realiza la tabla de alimentación especificando la dosis de cada producto y las horas para alimentar para cada estadio.
	3. Aplicación del alimento	Se pesa el alimento y se hidrata con agua dulce,	4. Frecuencia de alimentación	Se alimenta en Zoea cada 4 horas hasta Mysis 2, en Mysis 3 y Postlarva cada 3 horas.
		Se tamiza solo el alimento Ultra black flake durante los primeros estadios		Todo el material utilizado para la preparación del alimento se lava y se desinfecta diariamente.
		Posteriormente se procede a alimentar, homogenizando el alimento antes de colocar al tanque.		
	5. Aplicación de Algas y Artemia	Se observa diariamente la concentración de algas con la cámara de Neubauer, con el fin de determinar si se adiciona o no microalgas.	6. Tipo y nivel de recambio de agua	Esto se realiza únicamente desde Mysis 3 solo cuando se observe el medio cargado.
Estadio de nauplio: Se suministra 1 TM de microalgas del género <i>Thalassiosira</i> sp. después de la siembra (4 a 5 horas transcurridas), con una densidad de 30, 000 cel/ml.		El tipo de recambio que se utiliza puede ser por renovación parcial, recambio dirigido o por flujo continuo dependiendo de la necesidad.		
Estadio de Zoea: Se mantiene la densidad de 30, 000 cel/ml de <i>Thalassiosira</i> sp., en el estadio Zoea 3 se adiciona artemia muerta.		Se utilizan mallas y filtros para recambio de agua, estos varían según el estadio (estos pueden ser desde 300 a 500 micras).		
Estadio de Mysis: Se suministra artemia viva y se mantiene a una densidad de 50, 000 cel/ml de <i>Thalassiosira</i> sp. hasta el estadio Mysis 2, en Mysis 3 se empieza colocando algas del género <i>Tetraselmis</i> sp. a una densidad de 30, 000 cel/ml.		Se baja el nivel de 30 al 50 %, dependiendo del nivel de carga del medio.		
Estadio de Postlarvas: Se coloca artemia viva hasta el estadio de postlarva 3, desde el estadio postlarva 4 hasta postlarva 12 se suministra quistes de artemia decapsulados, además se adiciona el alga <i>Tetraselmis</i> sp. hasta el estadio de Postlarva 4.		Por último, se procede a desarmar los filtros y a desinfectarlos.		
Cosecha	1. Proceso de cosecha	Se desinfecta las tinas donde se recibe la larva con jabón líquido neutro y con una solución de Vitamina C.	2. Manejo de cosecha	Posteriormente la larva pesada se lleva a las tinas de cosecha, en las tinas se realiza con una manguera un sifón para quitar restos de materia orgánica.
		Se arma los filtros con mallas de 400 o 500 micras para bajar nivel de los tanques hasta dejar a 4 TM		Se homogeniza la larva que se encuentra en la tina y se procede a pescarla con un chayo fino, esta se coloca sobre otro chayo para sacudir la muestra (1 o 2 sacudidas).
		Una vez preparadas las tinas con los parámetros requeridos se procede a pescar con un chayo de malla fina recorriendo todo el tanque.		Por último, se lleva las muestras en bandejas para registrar el pesaje además se saca el pelegramo de 1 gr de muestra para obtener la cantidad en kg de producción.

ANEXO 2. Cantidad de larvas de siembra y de cosecha en cada uno de los tratamientos aplicados.

Tratamiento 1 (control-Rep 1)					Tratamiento 1 (control-Rep 2)			
Corrida	Siembra (Cant. Bruto)	Cosecha (Cant. Bruto)	PL/gr	Supervivencia (Cant. Bruto %)	Siembra (Cant. Bruto)	Cosecha (Cant. Bruto)	PL/gr	Supervivencia (Cant. Bruto %)
1	2334000	1940000	200	83%	2334000	1800000	180	77%
2	2667000	1770000	230	66%	2667000	1774000	235	67%
3	3000000	1753000	180	58%	3000000	1894000	180	63%
4	2667000	1471000	260	55%	2667000	1647000	255	62%
Total	10668000	6934000		65%	10668000	7115000		67%
Corrida	Siembra (Cant. Facturada)	Cosecha (Cant. Facturada)	Supervivencia (Cant. Facturada %)	Descuento	Siembra (Cant. Facturada)	Cosecha (Cant. Facturada)	Supervivencia (Cant. Facturada %)	Descuento
1	1750500	1649000	94%	15%	1750500	1530000	87%	15%
2	2000250	1504500	75%		2000250	1507900	75%	
3	2250000	1490050	66%		2250000	1609900	72%	
4	2000250	1250350	63%		2000250	1399950	70%	
Total	8001000	5893900	74%		8001000	6047750	76%	
Tratamiento 2 (Probiotic A-Rep 1)					Tratamiento 2 (Probiotic A-Rep 2)			
Corrida	Siembra (Cant. Bruto)	Cosecha (Cant. Bruto)	PL/gr	Supervivencia (Cant. Bruto %)	Siembra (Cant. Bruto)	Cosecha (Cant. Bruto)	PL/gr	Supervivencia (Cant. Bruto %)
1	3333000	1885000	250	57%	3333000	2125000	245	64%
2	3333000	2350000	200	71%	3333000	2295000	200	69%
3	3334000	2405000	230	72%	3334000	2025000	210	61%
4	4700000	3228000	200	69%	4700000	2735000	200	58%
Total	14700000	9868000		67%	14700000	9180000		62%
Corrida	Siembra (Cant. Facturada)	Cosecha (Cant. Facturada)	Supervivencia (Cant. Facturada %)	Descuento	Siembra (Cant. Facturada)	Cosecha (Cant. Facturada)	Supervivencia (Cant. Facturada %)	Descuento
1	2499750	1602250	64%	15%	2499750	1806250	72%	15%
2	2499750	1997500	80%		2499750	1950750	78%	
3	2500500	2044250	82%		2500500	1721250	69%	
4	3525000	2743800	78%		3525000	2324750	66%	
Total	11025000	8387800	76%		11025000	7803000	71%	

Tratamiento 3 (Probiotic B-Rep 1)					Tratamiento 3 (Probiotic B-Rep 2)			
Corrida	Siembra (Cant. Bruto)	Cosecha (Cant. Bruto)	PL/gr	Supervivencia (Cant. Bruto %)	Siembra (Cant. Bruto)	Cosecha (Cant. Bruto)	PL/gr	Supervivencia (Cant. Bruto %)
1	2667000	2050000	190	77%	2667000	1715000	170	64%
2	3333000	2160000	215	65%	3333000	2410000	210	72%
3	3260000	2100000	170	64%	3260000	2140000	200	66%
4	4222000	3155000	225	75%	4222000	3100000	190	73%
Total	13482000	9465000		70%	13482000	9365000		69%
Corrida	Siembra (Cant. Facturada)	Cosecha (Cant. Facturada)	Supervivencia (Cant. Facturada %)	Descuento	Siembra (Cant. Facturada)	Cosecha (Cant. Facturada)	Supervivencia (Cant. Facturada %)	Descuento
1	2000250	1742500	87%	15%	2000250	1457750	73%	15%
2	2499750	1836000	73%		2499750	2048500	82%	
3	2445000	1785000	73%		2445000	1819000	74%	
4	3166500	2681750	85%		3166500	2635000	83%	
Total	10111500	8045250	80%		10111500	7960250	79%	