



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

**“EFECTO DE LA COMBINACIÓN DE PROBIÓTICOS COMERCIALES
APLICADOS EN EL ALIMENTO DE POSTLARVAS DE CAMARÓN**

***Litopenaeus vannamei.*”**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN
CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de: BIÓLOGO

AUTOR:

JEANCARLOS JOSUÉ RODRÍGUEZ MUÑOZ

TUTOR:

Blga. DENNIS TOMALÁ SOLANO M.Sc.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2024

UNIVERSIDAD ESTATAL

PENINSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

“EFECTO DE LA COMBINACIÓN DE PROBIÓTICOS
COMERCIALES APLICADOS EN EL ALIMENTO DE
POSTLARVAS DE CAMARÓN *Litopenaeus vannamei*.”

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

JEANCARLOS JOSUÉ RODRÍGUEZ MUÑOZ

TUTOR:

Blga. DENNIS TOMALÁ SOLANO M.Sc.

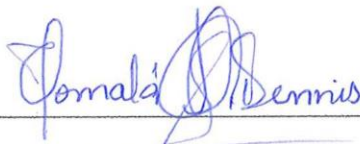
LA LIBERTAD – ECUADOR

2024

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular “Efecto de la combinación de probióticos comerciales aplicados en el alimento de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei*”, elaborado por Rodríguez Muñoz Jeancarlos Josué, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente



Blga. Tomalá Solano Dennis, M.Sc.

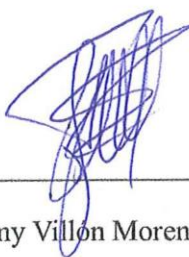
DOCENTE TUTOR

C.I. 0922584982

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “Efecto de la combinación de probióticos comerciales aplicados en el alimento de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei*”, elaborado por Rodríguez Muñoz Jeancarlos Josué, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente



Ing, Jimmy Villón Moreno, M.Sc.

DOCENTE DE ÁREA

C.I. 0913270153

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedico a Dios por brindarme salud, vida y la disciplina para cumplir con mis objetivos.

En segundo a mis padres y abuelos quienes siempre estuvieron ahí para brindarme palabras de aliento, amor y paciencia. También a los amigos que me han acompañado durante todo mi proceso de formación profesional.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi guía en momentos de dificultad y de debilidad.

A mi familia por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria y mi vida, en especial a mi mamá Patricia Muñoz que siempre ha estado motivándome a seguir adelante.

De manera especial a la Blga. Dennis Tomalá Solano, M. Sc, en calidad de tutor quien me ha impartido sus conocimientos profesionales, además de brindarme confianza y apoyo en momentos difíciles, agradezco infinitamente la paciencia que tuvo para realizar cada corrección durante el desarrollo de la investigación.

Al laboratorio de larvas por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo de investigación en sus instalaciones. También quiero expresar mi reconocimiento al Blgo. Fabián Escobar, así como a los técnicos acuicultores Tomás Borbor, Edison Gómez, a la señorita Gabriela Lozano y a todos mis compañeros de la empresa por los conocimientos que me brindaron.

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Jeancarlos Josué Rodríguez Muñoz** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 15 de Julio del 2024



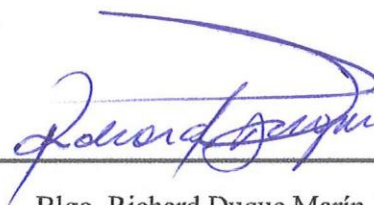
Ing, Jimmy Villón Moreno, M.Sc.
DIRECTOR DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



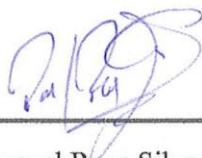
Ing, Jimmy Villón Moreno, M.Sc.
PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blga. Dennis Tomalá Solano M.Sc.
DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo. Richard Duque Marín, Mgt.
DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lcdo. Pascual Roca Silvestre Mgtr.
SECRETARIO DEL TRIBUNAL

Declaración expresa

Declaro que:

La responsabilidad de la investigación exhibida en el presente documento me confiere a mí, y el patrimonio intelectual de la misma le corresponde a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.



Jeancarlos Josué Rodríguez Muñoz

C.I. 2450220641

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 24 |
| 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 27 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 28 |
| 4. OBJETIVOS | 29 |
| 4.1 Objetivo General | 29 |
| 4.2 Objetivos Específicos | 29 |
| 5. HIPÓTESIS..... | 30 |
| 6. MARCO TEÓRICO..... | 31 |
| 6.1 Situación actual de la Acuicultura | 31 |
| 6.2 Principales países productores de camarón | 32 |
| 6.3 Definición de probiótico..... | 32 |
| 6.3.1 Probióticos comerciales en el cultivo de larvas de camarón blanco (<i>L. vannamei</i>)..... | 33 |
| 6.3.2 Modos de aplicación de probióticos | 34 |
| 6.3.3 Mecanismos de acción..... | 36 |
| 6.4 Enfermedades en el cultivo de camarón..... | 40 |
| 6.4.1 Género <i>Vibrio</i> | 41 |
| 6.4.2 Principales enfermedades Bacterianas en larvicultura del Camarón Blanco (<i>L. vannamei</i>)..... | 42 |
| 6.5 Medios de cultivo | 45 |
| 6.5.1 Agar TCBS | 45 |
| 6.5.2 Agar <i>Vibrio</i> | 46 |
| 6.5.3 Agar <i>Pseudomona</i> | 46 |
| 6.5.4 Agar TSA..... | 46 |

| | | |
|--------|---|----|
| 6.6 | Clasificación taxonómica | 47 |
| 6.6.1 | Estadíos o etapas del crecimiento larvario | 47 |
| 7. | MARCO METODOLÓGICO | 52 |
| 7.1 | Área de estudio | 52 |
| 7.2 | Enfoque y tipo de investigación | 53 |
| 7.3 | Probióticos empleados..... | 53 |
| 7.3.1 | Probiótico comercial A..... | 53 |
| 7.3.2 | Probiótico comercial B..... | 53 |
| 7.3.3 | Probiótico comercial C..... | 54 |
| 7.3.4 | Probiótico comercial D..... | 54 |
| 7.3.5 | Probiótico comercial E..... | 54 |
| 7.3.6 | Probiótico comercial F..... | 55 |
| 7.3.7 | Probiótico comercial G..... | 55 |
| 7.4 | Diseño experimental..... | 55 |
| 7.5 | Dosificación por tratamiento | 56 |
| 7.6 | Población de estudio..... | 60 |
| 7.7 | Activación y modo de aplicación de probióticos..... | 60 |
| 7.8 | Dieta de postlarvas | 61 |
| 7.9 | Bacteriología de postlarvas..... | 62 |
| 7.10 | Preparación de medios de cultivo..... | 62 |
| 7.10.1 | Agar TCBS | 62 |
| 7.10.2 | Chromagenic Agar <i>Vibrio</i> | 63 |
| 7.10.3 | CHROMagar <i>Pseudomona</i> | 63 |
| 7.10.4 | Agar TSA..... | 63 |

| | | |
|-------|--|----|
| 7.11 | Inoculación de muestras | 64 |
| 7.12 | Estimación de unidades formadoras de colonias..... | 64 |
| 7.13 | Parámetros fisicoquímicos..... | 66 |
| 7.14 | Determinación de supervivencia | 66 |
| 7.15 | Análisis microscópico de <i>L. vannamei</i> | 66 |
| 7.16 | Análisis estadístico | 68 |
| 8. | RESULTADOS..... | 69 |
| 8.1 | Carga bacteriana de las postlarvas <i>L. vannamei</i> | 69 |
| 8.1.1 | Colonias amarillas | 69 |
| 8.1.2 | Colonias verdes | 70 |
| 8.1.3 | <i>V. alginolyticus</i> | 71 |
| 8.1.4 | <i>V. vulnificus</i> | 72 |
| 8.1.5 | <i>V. parahaemolyticus</i> | 73 |
| 8.1.6 | <i>Pseudomonas</i> | 74 |
| 8.1.7 | Bacterias totales..... | 75 |
| 8.2 | Relación de parámetros físicos – químicos con la supervivencia..... | 76 |
| 8.2.1 | Temperatura..... | 76 |
| 8.2.2 | Salinidad | 78 |
| 8.2.3 | Oxígeno disuelto..... | 80 |
| 8.2.4 | pH..... | 82 |
| 8.2.5 | Correlación de las variables..... | 84 |
| 8.3 | Análisis de dinámica de crecimiento bacteriano y tasa de supervivencia de postlarvas | 86 |
| 8.3.1 | Colonias amarillas | 86 |
| 8.3.2 | Colonias verdes | 93 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 8.3.3 | <i>V. alginolyticus</i> | 100 |
| 8.3.4 | <i>V. vulnificus</i> | 107 |
| 8.3.5 | <i>V. parahaemolyticus</i> | 114 |
| 8.3.6 | <i>Pseudomonas</i> | 121 |
| 8.3.7 | Bacterias totales..... | 128 |
| 8.3.8 | Supervivencia de postlarvas | 135 |
| 8.4 | Análisis microscópico <i>L. vannamei</i> | 137 |
| 9. | DISCUSIONES..... | 139 |
| 10. | CONCLUSIONES..... | 147 |
| 11. | RECOMENDACIONES | 149 |
| 12. | BIBLIOGRAFÍA | 150 |
| 13. | ANEXOS..... | 166 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1 <i>Sub – estadíos de Nauplio</i> | 48 |
| Figura 2 <i>Subestadíos de Zoea</i> | 49 |
| Figura 3 <i>Subestadíos de Mysis</i> | 50 |
| Figura 4 <i>Postlarvas de camarón</i> | 51 |
| Figura 5 <i>Área de estudio ubicada en la comuna San Pablo provincia de Santa Elena</i> | 52 |
| Figura 6 <i>Presencia de colonias amarillas por cada tratamiento experimental y ciclo de producción</i> | 70 |
| Figura 7 <i>Presencia de colonias verdes por cada tratamiento experimental y ciclo de producción</i> | 71 |
| Figura 8 <i>Carga bacteriana de V. alginolyticus por cada tratamiento experimental y ciclo de producción</i> | 72 |
| Figura 9 <i>Carga bacteriana de V. vulnificus por cada tratamiento experimental y ciclo de producción</i> | 73 |
| Figura 10 <i>Carga bacteriana de V. parahaemolyticus por cada tratamiento experimental y ciclo de producción</i> | 74 |
| Figura 11 <i>Presencia de Pseudomonas por cada tratamiento experimental y ciclo de producción</i> | 75 |
| Figura 12 <i>Presencia de colonias amarillas por cada tratamiento experimental y ciclo de producción</i> | 76 |
| Figura 13 <i>Promedios de temperatura por estadío de los tres ciclos de producción</i> | 77 |
| Figura 14 <i>Promedios de salinidad por estadío de los tres ciclos de producción</i> | 79 |
| Figura 15 <i>Promedio de oxígeno disuelto por estadío de los tres ciclos de producción</i> | 81 |
| Figura 16 <i>Promedios de pH por estadío de los tres ciclos de producción</i> | 83 |
| Figura 17 <i>Dispersión de porcentaje de Supervivencia vs Parámetros de calidad de agua</i> | 85 |

| | |
|---|------------|
| Figura 18 <i>Correlación de Pearson de datos de Supervivencia vs Temperatura, Salinidad, Oxígeno disuelto y pH</i> | 85 |
| Figura 19 <i>Dinámica de crecimiento de colonias amarillas por tratamiento y ciclo de producción</i> | 87 |
| Figura 20 <i>Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Zoea 3</i> | 88 |
| Figura 21 <i>Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Mysis 3</i> | 89 |
| Figura 22 <i>Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Postlarva 2</i> | 90 |
| Figura 23 <i>Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Postlarva 4</i> | 91 |
| Figura 24 <i>Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Postlarva 6</i> | 92 |
| Figura 25 <i>Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Postlarva 8</i> | 93 |
| Figura 26 <i>Dinámica de crecimiento de colonias verdes por tratamiento y ciclo de producción</i> | 94 |
| Figura 27 <i>Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Zoea 3</i> | 95 |
| Figura 28 <i>Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Mysis 3</i> | 96 |
| Figura 29 <i>Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Postlarva 2</i> | 97 |
| Figura 30 <i>Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Postlarva 4</i> | 98 |
| Figura 31 <i>Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Postlarva 6</i> | 99 |
| Figura 32 <i>Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Postlarva 8</i> | 100 |
| Figura 33 <i>Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus por tratamiento y ciclo de producción</i> | 101 |
| Figura 34 <i>Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Zoea 3</i> | 102 |
| Figura 35 <i>Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Mysis 3</i> | 103 |
| Figura 36 <i>Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Postlarva 2</i> | 104 |
| Figura 37 <i>Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Postlarva 4</i> | 105 |
| Figura 38 <i>Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Postlarva 6</i> | 106 |
| Figura 39 <i>Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Postlarva 8</i> | 107 |

| | |
|--|------------|
| Figura 40 <i>Dinámica de crecimiento de V. vulnificus por tratamiento y ciclo de producción</i> | 108 |
| Figura 41 <i>Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Zoea 3</i> | 109 |
| Figura 42 <i>Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Mysis 3</i> | 110 |
| Figura 43 <i>Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Postlarva 2</i> | 111 |
| Figura 44 <i>Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Postlarva 4</i> | 112 |
| Figura 45 <i>Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Postlarva 6</i> | 113 |
| Figura 46 <i>Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Postlarva 8</i> | 114 |
| Figura 47 <i>Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus por tratamiento y ciclo de producción</i> | 115 |
| Figura 48 <i>Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Zoea 3</i> | 116 |
| Figura 49 <i>Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Mysis 3</i> | 117 |
| Figura 50 <i>Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Postlarva 2</i> | 118 |
| Figura 51 <i>Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Postlarva 4</i> | 119 |
| Figura 52 <i>Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Postlarva 6</i> ... | 120 |
| Figura 53 <i>Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Postlarva 8</i> ... | 121 |
| Figura 54 <i>Dinámica de crecimiento de Pseudomona por tratamiento y ciclo de producción</i> | 122 |
| Figura 55 <i>Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Zoea 3</i> | 123 |
| Figura 56 <i>Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Mysis 3</i> | 124 |
| Figura 57 <i>Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Postlarva 2</i> | 125 |
| Figura 58 <i>Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Postlarva 4</i> | 126 |
| Figura 59 <i>Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Postlarva 6</i> | 127 |
| Figura 60 <i>Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Postlarva 8</i> | 128 |
| Figura 61 <i>Dinámica de crecimiento de Bacterias totales por tratamiento y ciclo de producción</i> | 129 |

| | |
|---|------------|
| Figura 62 <i>Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Zoea 3</i> | 130 |
| Figura 63 <i>Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Mysis 3</i> | 131 |
| Figura 64 <i>Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Postlarva 2</i> | 132 |
| Figura 65 <i>Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Postlarva 4</i> | 133 |
| Figura 66 <i>Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Postlarva 6</i> | 134 |
| Figura 67 <i>Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Postlarva 8</i> | 135 |
| Figura 68 <i>Promedio de supervivencia de cada ciclo de producción</i> | 136 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----|
| Tabla 1 <i>Descripción de los tratamientos estudiados en la investigación</i> | 56 |
| Tabla 2 <i>Dosificación de los probióticos del tratamiento 1</i> | 57 |
| Tabla 3 <i>Dosificación de los probióticos del tratamiento 2</i> | 58 |
| Tabla 4 <i>Dosificación de los probióticos del tratamiento 3</i> | 59 |
| Tabla 5 <i>Población y densidad de siembra por tratamiento</i> | 60 |
| Tabla 6 <i>Rango de valores de UFC en postlarvas de camarón utilizado en el Laboratorio de Microbiología de la empresa</i> | 65 |
| Tabla 7 <i>Tabla de criterios para análisis de calidad</i> | 67 |
| Tabla 8 <i>Control de calidad en estadios Zoea en el primer ciclo de producción.</i> | 137 |
| Tabla 9 <i>Control de calidad en estadios Zoea en el segundo ciclo de producción</i> | 138 |
| Tabla 10 <i>Control de calidad en estadios Zoea en el primer ciclo de producción</i> | 138 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|-----|
| Anexo 1 A) <i>Aclimatación y siembra de Nauplios</i> , B) <i>Análisis microscópico de larvas</i> , C) <i>Conteo de colonias bacterianas</i> , D) <i>Adición de probiótico al alimento</i> | 166 |
| Anexo 2 <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de colonias amarillas</i> | 167 |
| Anexo 3 <i>Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de colonias amarillas</i> | 167 |
| Anexo 4 <i>Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de colonias amarillas</i> | 168 |
| Anexo 5 <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de colonias verdes</i> | 169 |
| Anexo 6 <i>Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de colonias verdes</i> | 169 |
| Anexo 7 <i>Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de colonias verdes</i> | 170 |
| Anexo 8 <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de V. alginolyticus</i> | 171 |
| Anexo 9 <i>Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de V. alginolyticus</i> | 171 |
| Anexo 10 <i>Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de V. alginolyticus</i> | 172 |
| Anexo 11 <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de V. vulnificus</i> | 173 |
| Anexo 12 <i>Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de V. vulnificus</i> | 173 |
| Anexo 13 <i>Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de V. vulnificus</i> | 174 |
| Anexo 14 <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de V. parahaemolyticus</i> | 174 |

| | |
|---|-----|
| Anexo 15 <i>Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de V. parahaemolyticus</i> | 175 |
| Anexo 16 <i>Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de V. parahaemolyticus</i> | 175 |
| Anexo 17 <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de Pseudomonas</i> | 176 |
| Anexo 18 <i>Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de Pseudomonas</i> | 176 |
| Anexo 19 <i>Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de Pseudomonas</i> | 177 |
| Anexo 20 <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de Bacterias totales</i> | 178 |
| Anexo 21 <i>Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de Bacterias totales</i> | 178 |
| Anexo 22 <i>Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de Bacterias totales</i> | 179 |
| Anexo 23 <i>Análisis por método Tukey de los datos de supervivencia</i> | 180 |
| Anexo 24 <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de supervivencia</i> | 180 |
| Anexo 25 <i>Prueba de igualdad de varianzas de Levene de los datos de supervivencia de los tratamientos</i> | 181 |

GLOSARIO

Acuicultura: Cultivo y producción de especies acuáticas empleando metodologías y técnicas para obtener un desarrollo y crecimiento óptimo.

Larvicultura: Cultivo de larvas dentro de los laboratorios para facilitar su desarrollo.

Microbiota: Población bacteriana y de microorganismos que se alojan en la piel, zona bucal, intestino, etc.

Patógeno: Origina y desarrolla una enfermedad.

Supervivencia: Acción y efecto de sobrevivir.

Vibriosis: Es una enfermedad bacteriana, causada por cepas patógenas extracelulares.

SIMBOLOGÍA

g: Gramo

Kg: kilogramo.

mg/L: Miligramo de oxígeno por litro.

ml: Mililitro

OD: Oxígeno Disuelto

pH: Potencial de Hidrógeno

Pl: Postlarvas

Pl/g: Cantidad de Postlarva por gramo.

ppm: Partes por millón

ppt: Partes por mil

UPS: Unidades prácticas de salinidad.

RESUMEN

La acuicultura ha emergido como una actividad económica en Ecuador, siendo el cultivo de camarón una de las principales industrias. En las últimas décadas, brotes de enfermedades patógenas han ocasionado pérdidas económicas al sector. Una estrategia empleada para mitigar la carga bacteriana ha sido la aplicación de probióticos. El presente estudio compara el efecto de una combinación de probióticos comerciales añadidos al alimento balanceado de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei*, mediante análisis bacteriológicos y evaluación de la supervivencia en cultivos intensivos. Durante tres ciclos de producción, fueron administrados tres tratamientos que consistían en mezclas de probióticos. Se monitorearon los parámetros del agua y se realizaron análisis bacteriológicos en los estadíos Z3, M3, Pl 2 a Pl 8 para analizar el efecto de la mezcla de probióticos. Los parámetros de calidad del agua se mantuvieron estables (temperatura: 32.5-34 °C, salinidad: 24-31 ppt, pH: 7.75-8.35, oxígeno disuelto: 4.5-5.3 mg/L). No se observaron diferencias significativas en la supervivencia de las postlarvas y en los niveles normales de *Vibrio spp.* y *Pseudomona spp.* entre los tratamientos experimentales ($p > 0.05$). Sin embargo, los tratamientos evaluados demostraron eficacia en el control de bacterias patógenas en el cultivo intensivo de larvas de camarón.

Palabras clave: probiótico, *Litopenaeus vannamei*, *Vibrio*, *Pseudomona*.

ABSTRACT

Aquaculture has emerged as a economic activity in Ecuador, with shrimp farming being one of the main industries. In recent decades, outbreaks of pathogenic diseases have caused economic losses to the sector. One strategy employed to mitigate bacterial load has been the application of probiotics. The present study compares the effect of a combination of commercial probiotics added to the balanced feed of shrimp postlarvae *Litopenaeus vannamei*, through bacteriological analysis and evaluation of survival in intensive cultures. During three production cycles, three treatments consisting of probiotic mixtures were administered. Water parameters were monitored and bacteriological analyses were conducted in stages Z3, M3, P1 2 to P1 8 to analyze the effect of the probiotic mixture. Water quality parameters remained stable (temperature: 32.5-34 °C, salinity: 24-31 ppt, pH: 7.75-8.35, dissolved oxygen: 4.5-5.3 mg/L). No significant differences were observed in the survival of postlarvae and in the normal levels of *Vibrio spp.* and *Pseudomona spp.* between the experimental treatments ($p>0.05$). However, the evaluated treatments demonstrated efficacy in controlling pathogenic bacteria in the intensive cultivation of shrimp larvae.

Keys words: probiotic, *Litopenaeus vannamei*, *Vibrio*, *Pseudomona*.

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

El camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, es una especie endémica del Océano Pacífico Oriental, desde el Golfo de California hasta Perú, se ha convertido en una de las principales especies cultivadas a nivel mundial, con un alto valor económico y una demanda en aumento en los mercados internacionales (Moreira & Méndez, 2024). Sin embargo, en las últimas décadas se han presentado diversas enfermedades patógenas que han generado grandes pérdidas económicas para la industria (Jamal, 2019). Por tal motivo, los productores han recurrido a la búsqueda de estrategias de producción que faciliten la obtención de tasas de supervivencia altas con la mejor calidad posible, para mantener la competitividad en la cadena productiva.

La aplicación de probióticos se considera una estrategia eficaz en la acuicultura, ya que constituyen una alternativa para reducir el uso indiscriminado de antibióticos (Akhter et al., 2015; Hai, 2015). Estos últimos pueden provocar efectos adversos como el aumento de la resistencia en bacterias patógenas, ocasionando desequilibrios ambientales y la acumulación de residuos en el cuerpo humano (Aich, 2018). En la actualidad, se han identificado diversos genes de resistencia a antibióticos en los intestinos de camarones, así como en el agua y sedimentos de sistemas acuícolas (Zhao et al., 2018).

Los probióticos en sistemas acuáticos pueden tener mecanismos de acción directa sobre el huésped o indirecta actuando sobre el medio de cultivo, aunque en algunos casos involucra ambos (Jamal et al., 2019). Son utilizados en los sistemas de producción como control biológico, lo que permite modificar las comunidades microbianas en la columna de agua y suelo, con el fin de disminuir o eliminar microorganismos patógenos que pueden afectar el cultivo (Kumar, 2016), digestibilidad de los nutrientes lo que promueve el crecimiento (Chai et al, 2016; Xue et al,2016), supervivencia de los animales en cultivo (García et al., 2020), y tolerancia al estrés (Jamal et al., 2019), entre otros beneficios.

El alimento debe aportar los compuestos químicos vitales para el desarrollo óptimo del camarón, suplementar las dietas con probióticos es una de las estrategias más prometedoras para controlar o tratar enfermedades microbianas (Zheng et al., 2020), debido a su capacidad para generar resistencia a ciertos patógenos. Dentro de este contexto, varios investigadores han realizado estudios con la utilización de bacterias, mencionando a Huynh et al (2018), quienes utilizaron galacto-oligosacárido (GOS) y el probiótico *Lactobacillus plantarum* sobre la respuesta inmunitaria y la resistencia a enfermedades producidas por *Vibrio alginolyticus*; Vieira et al (2016) al utilizar dietas suplementadas con *L. plantarum* modificaron la microbiota bacteriana intestinal de camarones criados en una granja comercial, reduciendo la abundancia de *Vibrio spp.*

El uso de probióticos como estrategia para el control bacteriológico funciona bajo el principio de exclusión competitiva (Sotomayor & Balcazár 2016). Las bacterias probióticas consumen nutrientes del agua y del fondo de los estanques, además ocupan espacios dentro del tracto digestivo del organismo, reduciendo las posibilidades de desarrollo y colonización de microorganismos patógenos (Knipe et al, 2021; Ringo et al, 2016).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La acuicultura es una actividad de gran relevancia para el desarrollo económico del Ecuador, principalmente el cultivo de camarón. Sin embargo, uno de los factores limitantes durante la producción ha sido el surgimiento de enfermedades, llegando a producir pérdidas económicas significativas por las altas tasas de mortalidad que pueden generar. Entre los patógenos que afectan al cultivo de camarón se encuentran los de origen bacteriano, cuyas principales especies pertenecen al género *Vibrio*.

En los últimos años se ha incrementado la búsqueda de nuevas estrategias profilácticas con el fin de mantener la competitividad en el sector productivo. Han sido seleccionadas diversas especies o cepas bacterianas como probióticos debido a su accionar biológico, las cuales han sido testeadas *in vitro* e *in vivo* para desarrollar productos comerciales que actualmente son utilizados en protocolos de producción. A pesar del uso de diversos productos para mantener la salud de los organismos se continúan reportando pérdidas en las diferentes fases de producción de camarón, especialmente en la larvicultura.

En base a lo anterior, se ha visto la necesidad de analizar el efecto de tres protocolos de aplicación de probióticos utilizados en sistemas de producción intensiva de larvas de camarón.

3. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se han realizado diversas investigaciones en la búsqueda de nuevas estrategias profilácticas desde la prohibición del uso de antibióticos. El efecto de los probióticos ha sido ampliamente estudiado en las diferentes fases de producción del camarón, ya sea aplicados de forma individual o combinando varios productos, como complemento alimenticio o directamente sobre el agua, demostrando así la capacidad que tienen para mantener óptimas condiciones de calidad de agua, generar resistencia ante enfermedades e incrementar las tasas de supervivencia en el cultivo.

Es necesario evaluar los efectos de probióticos comerciales bajo condiciones de producción intensiva, con el objetivo de establecer protocolos de aplicación de combinaciones que garanticen los mejores resultados en cuanto a supervivencia y resistencia a patógenos en cada uno de los estadios de vida de los organismos cultivados.

Bajo este contexto, surge la iniciativa de realizar la presente investigación que se encuentra enfocada en analizar y comparar el efecto de la combinación de probióticos comerciales aplicados como complemento alimenticio en el cultivo intensivo de postlarvas de camarón, determinando la eficiencia a nivel bacteriológico.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

- Comparar el efecto de la combinación de probióticos comerciales aplicados como complemento del alimento balanceado de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei* mediante el análisis bacteriológico y la supervivencia en cultivos intensivos.

4.2 Objetivos Específicos

- Aplicar probióticos comerciales en tanques de producción de postlarvas de *L. vannamei* determinando la presencia de colonias bacterianas utilizando medios de cultivo TCBS, TSA, Chromagenic Agar *Vibrio* y CHROMagar *Pseudomonas*.
- Relacionar los parámetros fisicoquímicos del agua con la tasa de sobrevivencia de larvas de camarón mediante la correlación de Pearson durante tres ciclos de producción.
- Evaluar la efectividad de la combinación de probióticos comerciales mediante la determinación de la carga bacteriana y análisis microscópico de los estadios larvarios estimando la tasa de supervivencia en las unidades experimentales.

5. HIPÓTESIS

Ho: La combinación de probióticos comerciales aplicados como complemento del alimento balanceado no reduce la presencia de bacterias patógenas en el cultivo intensivo de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei*.

Hi: La combinación de probióticos comerciales aplicados como complemento del alimento balanceado reduce la presencia de bacterias patógenas en el cultivo intensivo de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei*.

CAPÍTULO II

6. MARCO TEÓRICO

6.1 Situación actual de la Acuicultura

En Ecuador existe un alto nivel productivo de camarón debido a las condiciones climáticas favorables que permiten generar hasta 3.5 cosechas al año (Cunalata et al, 2018). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO (2015), sostiene que desde 1968, el cultivo de camarón se produce a escala industrial y se exporta desde 1970, teniendo sus inicios en el cantón Santa Rosa. En 1987, Ecuador se convirtió en el principal exportador a nivel mundial (Caballero, 2015). Durante la década de los 90, existió una disminución notable en la producción debido a diversos factores, como la disminución de precios por sobreoferta mundial, aumento de costos de producción y la propagación de enfermedades (Azüero et al., 2021).

A pesar de la inestabilidad que han mostrado los precios del camarón, la acuicultura ecuatoriana ha tenido avances significativos gracias a la mejora de los sistemas de producción y a la implementación de nuevas estrategias profilácticas para garantizar la sostenibilidad del cultivo.

En 2022, Ecuador generó \$ 6,653 millones de dólares por la exportación de más de 1,060 millones de toneladas. En 2023 se superó esta cifra de exportación con más

de 1,214 millones de toneladas, pero solo se generaron \$ 6,288 millones (Cámara Nacional de Acuicultura, 2023). Países como Ecuador e India son reconocidos como los principales proveedores de camarón a China y Estados Unidos.

6.2 Principales países productores de camarón

Los principales países productores de *Penaeus vannamei* incluyen a: China, Tailandia, Indonesia, Brasil, Ecuador, México, Venezuela, Honduras, Guatemala, Nicaragua, Belice, Vietnam, Malasia, P.C. de Taiwán, Islas del Pacífico, Perú, Colombia, Costa Rica, Panamá, Estados Unidos de América, India, Filipinas, Camboya, Surinam, Saint Kitts, Jamaica, Cuba, República Dominicana y Bahamas (Briones et al., 2017).

6.3 Definición de probiótico

El significado del término probiótico ha sido modificado a lo largo de los años. Fuller (1989 citado en García Hoyos, 2018) lo definió como un "*microorganismo vivo que se suministra al hospedero suplementado en el alimento para beneficiar el balance microbiano intestinal*".

Por su parte, Verschuere (2000, como se citó en Jamal, 2019) definió a los probióticos como un "*suplemento microbiano vivo con la capacidad de modificar la flora asociada a su hospedador y al ambiente generando efectos benéficos*".

Finalmente, la FAO/OMS (2001, como se citó en Sánchez, 2015) definió a los probióticos como "*microorganismos vivos que confieren efecto beneficioso para la salud del hospedador, cuando se administran en cantidad adecuada*".

6.3.1 Probióticos comerciales en el cultivo de larvas de camarón blanco (*L. vannamei*)

La manipulación microbiana es una herramienta viable para reducir o eliminar la incidencia de enfermedades y su utilización está ampliamente demostrada (Toledo et al., 2018; García, 2018). Esta práctica se consolida como una alternativa viable a la utilización de agentes quimioterapéuticos en el control de enfermedades, como señalan Jamal et al (2019) y Kumar et al (2016).

En la acuicultura, se utiliza microorganismos como tratamientos alternativos de gran eficacia y con efectos secundarios mínimos. No obstante, su efecto suele ser transitorio, por lo que su administración debe ser continua, ya sea como suplemento en la alimentación o en el agua del cultivo, para mantener el efecto biológico a lo largo del tiempo (Aguilera et al., 2021).

El éxito y la rentabilidad de esta industria dependen en gran medida de la implementación de un sistema de cultivo aséptico, confiable y sostenible, que garantice un riesgo mínimo de estrés producido por las variaciones ambientales, calidad de agua y tasas de alimentación (Delgado, 2019). En los últimos años, se ha

incrementado la búsqueda de microorganismos con capacidad probiótica con el objetivo de mejorar el rendimiento en los sistemas de producción, dentro del marco de prácticas respetuosas con el medio ambiente (Sorroza, 2012).

Los probióticos comúnmente usados en la producción de camarón son *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Nitrosomonas*, *Cellulomonas*, *Nitrobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Rhodopseudomonas*, entre otros (Maura, 2023; Hai, 2015).

6.3.2 Modos de aplicación de probióticos

Los probióticos suelen aplicarse de manera individual o combinados con otros probióticos durante el cultivo. Según observaciones realizadas por Allameh et al., (2015) el uso de múltiples cepas de probióticos puede mejorar la protección contra la infección de patógenos en comparación con los probióticos basados en una sola cepa. Además, Toledo et al. (2018) mencionan que la aplicación de varias cepas resulta ser más efectiva para mejorar la supervivencia, el crecimiento y el factor de conversión alimenticia en la producción.

Actualmente, las cepas seleccionadas como probióticos son administradas en dietas artificiales, en alimento vivo (artemia y rotíferos) o en agua de cultivo (Merrifield et al., 2010, como se citó en Gutiérrez, 2021), ambos métodos han sido probados

en diferentes cultivos de animales acuáticos principalmente en camarón (Sorroza, 2012).

6.3.2.1 Aplicación en el agua

Los probióticos pueden ser aplicados directamente en el agua en la que se desarrolla el cultivo, principalmente aquellos cuya función es degradar materia orgánica (Zokaeifar et al., 2014; Melgar Valdés., 2013), eliminar sustancias tóxicas e inhibir patógenos para mejorar la calidad del agua (Franco et al., 2016; Laranja et al., 2014).

Melgar Valdés et al (2013), sugiere mantener la frecuencia de aplicación durante todo el proceso de cultivo para obtener resultados adecuados, recomendando aplicar el producto semanalmente en el caso de juveniles, mientras que, para las larvas de camarón, la frecuencia de aplicación varía según las recomendaciones de cada técnico de producción. Por ello, Domínguez (2022) manifiesta que la aplicación de probióticos puede ser de 3 a 4 dosis diarias llegando incluso hasta 8 veces al día cada 3 horas.

6.3.2.2 Aplicación en el alimento

Los efectos benéficos de los probióticos suelen ocurrir principalmente a nivel del tracto gastrointestinal, por lo que se han desarrollado diversos métodos de administración para mejorar su estabilidad y absorción.

Dentro de este contexto, la aplicación de los probióticos como complemento alimenticio es uno de los métodos más empleados (Liu et al., 2014). Al inocular los probióticos con el alimento se obtienen diversos beneficios, como la mejora de los aspectos nutricionales, debido a la contribución a la digestión enzimática y un mejor aprovechamiento de los nutrientes ingeridos, además de mejorar la respuesta inmune y la inhibición de microorganismos patógenos. (Hamidoghli et al, 2020; Zokaeifar et al., 2014; Kuhlwein et al., 2014).

Para suministrar el probiótico con la dieta se puede realizar directamente en los pellets, ya sea utilizando sustancias adherentes o sin ellas, o bien se pueden agregar previamente en la fábrica de balanceado (Kumar et al., 2016).

6.3.3 Mecanismos de acción

Los probióticos son microorganismos vivos que ofrecen numerosos beneficios a través de diversos mecanismos. Varios estudios han demostrado y contribuido a comprender la acción de los probióticos en el organismo huésped, la microbiota y

su entorno (Gómez, 2020; Toledo et al., 2018). A continuación, se mencionan los principales mecanismos de acción descritos para los probióticos utilizados en la acuicultura:

6.3.3.1 Estimulación del sistema inmune

Uno de los campos de investigación más activos en la camaronicultura es la aplicación de probióticos con el fin de estimular el sistema inmune. Como resultado, existen varias publicaciones que documentan el accionar biológico de los probióticos para modular el sistema inmunológico del camarón (Franco et al., 2016; Zokaeifar et al., 2014; Wang y Gu, 2010).

Según Fuller (1992), como se citó en Maura (2023) y Villacís (2023) recalcan que la adición de probióticos en el cultivo de camarón puede fortalecer el sistema inmunológico de tres formas: a) Mejorando la actividad de los macrófagos, b) Aumentando la producción de anticuerpos sistémicos como la inmunoglobulina e interferón, y c) Reforzando los anticuerpos locales en las superficies mucosas.

6.3.3.2 Colonización del tracto digestivo

Los probióticos tienen la capacidad de adherirse al mucus entérico, aspecto fundamental para poder sobrevivir y desarrollarse en la microbiota intestinal (Toledo et al., 2018), es uno de los criterios principales considerados para su

selección y aplicación en la acuicultura (Vieira et al., 2016; Lamari et al., 2014). Las bacterias patógenas también cuentan con esta habilidad, sin embargo, su capacidad de generar una infección se relaciona estrechamente con el factor de virulencia (Defoirdt, 2014).

La evidencia disponible sugiere que las bacterias obtenidas de animales cultivados o de su entorno tienden a tener una mayor capacidad de adherirse al mucus gastrointestinal y a los tejidos en comparación con las bacterias externas al sistema (Toledo et al., 2018). Sin embargo, se ha documentado que los microorganismos aislados de una especie pueden colonizar con éxito el tracto digestivo de otras especies cultivadas, lo que indica una falta de especificidad en la colonización intestinal, como se señaló Sánchez-Ortiz et al (2016).

6.3.3.3 Producción de sustancias benéficas

El suministro nutricional para el cultivo de especies acuáticas ha sido potenciado por la implementación de nuevas fuentes de proteína producidas a base de levaduras y bacterias marinas. (Qiu y Davis, 2017; Gamboa-Delgado et al., 2016; Achupallas et al., 2015; Melo et al., 2015).

Los lípidos generados por microorganismos marinos se señalan como elementos de vital importancia para la alimentación de especies acuáticas (Hoseinifar et al., 2016). Las bacterias probióticas contribuyen al proceso digestivo de los organismos

cultivados al producir una variedad de enzimas digestivas, incluyendo lipasas, amilasas, carbohidrasas, quitinasas y proteasas, lo que resulta en un efecto positivo en los parámetros productivos (Chai et al., 2016; Seenivasan et al., 2016; Xue et al., 2016, como se citó en Maura, 2023).

6.3.3.4 Mejora de calidad de agua

Algunas bacterias se emplean para regular los niveles de amonio, nitritos, materia orgánica, nitratos y otros compuestos. Las bacterias Gram positivas, específicamente del género *Bacillus*, han sido seleccionadas como probióticos debido a su capacidad de convertir la materia orgánica en CO₂. En contraposición, las bacterias Gram negativas tienen la particularidad de convertir la materia orgánica en biomasa bacteriana (Zokaeifar et al., 2014).

Hamidoghli et al. (2020) utilizaron un producto comercial compuesto por *Bacillus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Pediococcus sp.*, *Thiobacillus sp.*, and *Paracoccus sp.* como complemento de dietas a base de proteínas vegetales y observaron mejoras en la calidad del agua, incluyendo la disminución del nitrógeno amoniacal total y el nitrito en el sistema de cultivo. Por otro lado, Novriadi et al. (2023) comparó el efecto del mismo producto comercial con otro de composición similar potenciado con enzimas y demostró que la aplicación continua de estos productos reduce la cantidad de *Vibrio spp.*, además obtuvo mejores condiciones de calidad del agua

con el tratamiento potenciado con enzimas en el que disminuyeron el nitrógeno amoniacal total, nitritos y nitratos.

Además del género *Bacillus*, se utilizan otras bacterias con potencial biorremediador como: *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Pseudomonas*, *Rhodopseudomonas*, *Cellulomonas* y *Acinetobacter*, que poseen la capacidad de regular la microbiota del agua, estabilizar los niveles de nitrato, amonio y nitrito, y promoviendo la disminución de la prevalencia de patógenos oportunistas en el entorno acuático (Chumpol et al., 2017; Kumar et al., 2016).

6.4 Enfermedades en el cultivo de camarón

La industria camaronera continúa creciendo y desarrollando métodos de tecnificación e intensificación, sin embargo, la producción puede ser afectada a causa de enfermedades virales y bacterianas (Zorriehzahra, 2015). Lightner & Redman (1998 como se citó en Ramírez, 2023) indican que el aumento del calentamiento global y la intensificación de los cultivos, permiten que las enfermedades bacterianas, especialmente la vibriosis, se conviertan en importantes amenazas para el desarrollo sostenible de la industria acuícola del camarón.

El uso de agua de mar directamente bombeada desde la playa para las producciones es la principal causa del ingreso de agentes infecciosos al sistema de cultivo, entre

los más comunes están las especies de *Vibrio*, *Aeromonas* y *Pseudomonas* (García et al., 2021), además, una baja calidad del agua y del fondo del estanque o un alimento de mala calidad, junto a las altas densidades de cultivo pueden generar que los microorganismos patógenos proliferen fácilmente, lo que aumenta las probabilidades de desarrollar una infección (Villacís, 2023).

6.4.1 Género *Vibrio*

Las enfermedades ocasionadas por especies del género *Vibrio* han generado considerables pérdidas económicas en la industria camaronera a nivel global (Kua et al., 2016). El género *Vibrio* corresponde a bacterias Gram negativas, pertenece al filo Proteobacteria y a la clase Gammaproteobacteria, de la familia Vibrionaceae que comprende 65 especies de bacterias heterótrofas (Thompson F. et al., 2006), en algunas regiones estuarinas llegan a representar casi el 60% de la población bacteriana, además son parte de la flora autóctona de los organismos marinos (Aguirre-Guzmán et al, 2013).

Tran et al. (2013), J. Zhou et al. (2012), Mohajeri et al. (2011) y Austin (2010), mencionan que las principales especies identificadas como causantes de infecciones en la larvicultura de camarones son: *Vibrio campbellii*, *V. harveyi*, y *V. parahaemolyticus*. Esta última mencionada es predominante del aparato digestivo de moluscos bivalvos que acumulan y concentran contaminantes naturales o

antropogénicos al alimentarse mediante filtración (Velázquez-Román et al., 2014 como se citó en Burgo-Ranadán y Arias-Rodríguez 2020).

6.4.2 Principales enfermedades bacterianas en larvicultura del camarón blanco (*L. vannamei*)

En los últimos años en Ecuador, las empresas dedicadas a la cría de larvas de camarón blanco han experimentado pérdidas económicas significativas debido a enfermedades infecciosas, principalmente bacterianas, que son frecuentes y probablemente sean consideradas la principal causa de mortalidad durante el proceso de cultivo (Newman, 2022; Reyes, 2021). Con frecuencia, estas enfermedades son causadas por patógenos presentes de forma natural en el medio, muchos de los cuales son oportunistas, es decir, no provocan infecciones en los organismos, mientras el cultivo se mantenga en condiciones favorables y en caso de no ser detectados y tratados a tiempo pueden generar pérdidas económicas importantes (Serrano, 2014).

6.4.2.1 Vibriosis sistemática

La Vibriosis, una enfermedad causada por bacterias gramnegativas del género *Vibrio*, ha sido el principal desafío en la producción de camarón blanco, tanto en la fase de larvicultura como en la de engorde. Esta enfermedad puede causar tasas significativas de mortalidad, llegando incluso al 100% de la producción (Flegel T.W. 2012).

Los agentes causales son *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *Photobacterium daunselae*, *V. campbellii* y *V. harvey*, pertenecientes al clado Harvey, organismos claves de búsqueda en los diagnósticos patológicos en la producción de camarón. (Lomeli & Martínez, 2014).

Durante el proceso de cultivo, los brotes de Vibriosis suelen ocurrir cuando hay cambios abruptos en las condiciones ambientales u otros factores, lo que resulta en un aumento en la reproducción bacteriana que excede las capacidades toleradas por el organismo (Cuéllar-Anjel, 2013). Cuando se presenta una infección es posible observar que las larvas se encuentran inactivas en el fondo de los estanques (Gómez et al., 2010, como se citó en Villacís, 2023).

6.4.2.2 Síndrome Zoea II

Esta enfermedad se manifiesta principalmente en el lumen o la luz de los túbulos del hepatopáncreas, donde las células de dicho órgano se descaman. Se cree que esta descamación puede ser causada por una reacción a toxinas bacterianas, siendo *Vibrio sp.* la bacteria comúnmente asociada; sin embargo, Otero (2018) menciona que *V. harveyi* está principalmente relacionada a esta patología, aunque también puede ser provocada por la presencia de metales pesados en los cultivos de larvas (Villacís, 2023). Se ha determinado mediante histopatología que los órganos vitales de los animales sufren daños que incluyen vacuolización, desprendimiento de células epiteliales y lesiones en el epitelio intestinal (Kumar, 2017).

Los signos de esta enfermedad incluyen la reducción del índice alimenticio, incremento en las tasas de mortalidad y la disminución de la actividad natatoria del organismo (Gómez et al., 2018).

6.4.2.3 Síndrome de bolitas

Mediante pruebas bioquímicas se determinó que *Vibrio harveyi* es el agente causante de esta enfermedad, factores como los altos recuentos bacterianos en los tanques, las bajas temperaturas o nauplios débiles pueden agravarla (Muñoz, 2022).

Si no se controlan las densidades de esta bacteria y los parámetros de temperatura, las infestaciones pueden volverse cada vez más difíciles de controlar (Suárez, 2024). Es una patología se presenta en la fase de larvicultura, suele generar el incremento de las tasas de mortalidad en los sistemas de cultivo o inclusive la muerte de todos los organismos. Uno de los principales síntomas es la presencia de la descamación celular en el tracto gastrointestinal de las larvas (Villacís, 2023).

6.4.2.4 Síndrome de mortalidad temprana (EMS o AHPND)

Durante casi una década, esta enfermedad debilitó significativamente al sector camaronero (Peña-Navarro et al., 2020; Joshi et al., 2014; Tran et al., 2013) a causa de la bacteria oportunista *Vibrio parahaemolyticus*. Esta enfermedad bacteriana se introduce en el organismo vía oral, ya sea a través de la ingestión de agua

contaminada, detritos orgánicos del fondo del estanque o por el canibalismo entre camarones previamente infectados (Morales, 2016).

La infección comienza con la colonización del tracto digestivo de los camarones infectados, originando disbiosis (Hossain et al., 2021; Chen et al., 2017). Las cepas de *Vibrio parahaemolyticus* portan genes de las toxinas PirA y PirB que disminuyen la diversidad bacteriana, lo que aumenta la aptitud de los vibrios para proliferar en los ambientes de cultivo (Restrepo et al., 2021), y posteriormente producen toxinas que causan daño celular en el hepatopáncreas (Morales, 2016; Tran et al., 2013).

Los principales signos clínicos en camarones enfermos con EMS incluyen nado errático, crecimiento reducido, atrofia en el hepatopáncreas, coloración pálida o blanquecina y textura blanda del exoesqueleto (Sarango, 2021).

6.5 Medios de cultivo

6.5.1 Agar TCBS

El Agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa es un medio de cultivo para el aislamiento de *Vibrio cholerae* y otros vibriones enteripatogénicos, cuya composición aproximada en gr/L declarada del producto es de 5.0 extracto de levadura, 10.0 peptona de proteosa n° 3, 10.0 citrato de sodio, 8.0 bilis de buey, 20.0 sacarosa, 10.0 cloruro de sodio, 1.0 citrato férrico de amonio, 0.04 azul de bromotimol, 0.04 azul de timol y 15.0 de agar, su pH es de 8.6 +/- 0.2.

6.5.2 Agar *Vibrio*

Es un medio cromogénico de cultivo para la detección y aislamiento de especies de *Vibrio*, cuya composición en gr/L es de 15.0 agar, 10.0 peptona, 3.0 de extracto de levadura, 3.0 colato de sodio, 10.0 tiosulfato de sodio, 1.0 de glucosa, 0.1 lactosa, 10.0 cloruro de sodio, 10.0 citrato de sodio, 20.0 sacarosa, 5.0 bilis especiales y 2.49 de mezcla cromogénica; su pH es de 8.6 +/- 0.2 como se indica en las especificaciones del producto.

6.5.3 Agar *Pseudomona*

Es un medio cromogénico de cultivo para la detección y aislamiento de especies de *Vibrio*, cuya composición declarada en gr/L es de 15.0 agar, 20.0 peptona, 8.0 de sales y 2.5 de mezcla cromogénica; su pH es de 7.5 +/- 0.2, como se especifica en el producto comercial.

6.5.4 Agar TSA

De acuerdo a las especificaciones del producto el agar de soja trípica se utiliza para el aislamiento y cultivo de microorganismos, incluidas bacterias aerobias y anaerobias, cuya composición en gr/L es de 15.0 digerido pancreático, 5.0 digerido papaínico de soja, 5.0 cloruro de sodio y 15.0 de agar.

6.6 Clasificación taxonómica

Phylum: Artropoda

Clase: Malacostraca

Orden: Decapoda

Suborden: Dendrobranchiata

Superfamilia: Penaeoidea

Familia: Penaeidae

Género: *Litopenaeus*

Especie: *vannamei* (Boone, 1931)

6.6.1 Estadíos o etapas del crecimiento larvario

De acuerdo con Garnica Delgado (2016), las larvas de camarón pasan por tres etapas definidas: etapa naupliar, etapa protozoa y etapa mysis, antes de que ocurra su metamorfosis a postlarva de camarón. Se estima que solo uno de cada cuatro nauplios logra desarrollarse hasta convertirse en un camarón maduro.

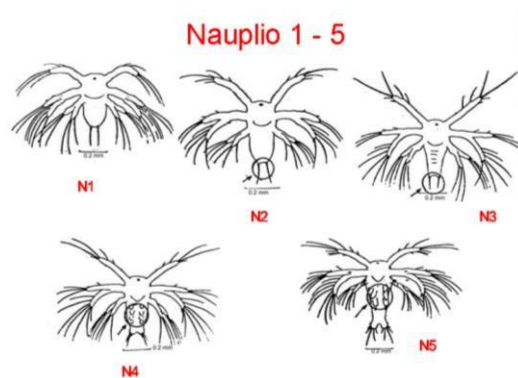
6.6.1.1 Nauplio

Luego de la eclosión de los huevos inicia la primera fase del desarrollo larvario del camarón, denominada Nauplio, que se divide en cinco subestadios: Nauplio I, II, III, IV y V. Durante esta fase, el cuerpo de las larvas tiene una forma periforme y presenta un ocelo en la parte frontal, así como una furca caudal, antena, anténula y mandíbula. A medida que avanzan a través de los subestadios, el cuerpo se alarga y se producen cambios en la antena, anténula y la furca caudal, con la adición de espinas (Figura 1). Además, muestran fototaxismo positivo (Arellano, 1993, como se citó en Maura, 2023).

Durante esta etapa, los nauplios se alimentan exclusivamente de las reservas vitelinas. En condiciones óptimas, el tiempo necesario para alcanzar el último subestadio es de aproximadamente 40-50 horas (Alonso & Hernández, 2011).

Figura 1

Sub – estadios de Nauplio



Nota. Diferencias morfológicas entre los subestadios de Nauplios de camarón. Marcillo (2014).

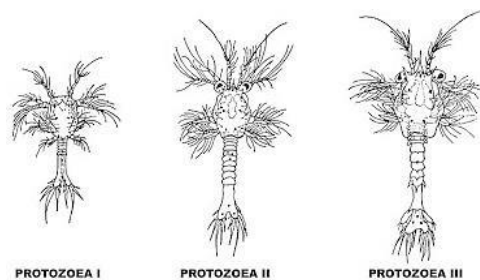
6.6.1.2 Zoea

Después de pasar por el quinto subestadio de nauplio, viene el estadio de Zoea con sus tres subestadios: Zoea I, II y III. Se diferencia del estadio anterior por la presencia de cefalotórax. Durante su primera fase, se observa una clara diferenciación entre cabeza y abdomen, un ojo naupliar presente (sésil) y un telson bilobulado. En la segunda fase, se nota un caparazón con una espina rostral y ojos compuestos pedunculados. En la tercera fase, se presentan espinas supraorbitales más desarrolladas, el telson se separa del sexto segmento y se observan urópodos rudimentarios (Figura 2) (Soto & González, 2009). Este estadio tiene una duración de 3 a 4 días, es decir, aproximadamente un día por subestadio.

La alimentación de la zoea se basa principalmente en microalgas presentes en el agua, ya que no tienen una cavidad bucal desarrollada (Ramírez, 2011).

Figura 2

Subestadios de Zoea



Nota. Diferencias morfológicas entre los subestadios de Zoeae. HC4-BIOTEC (2020).

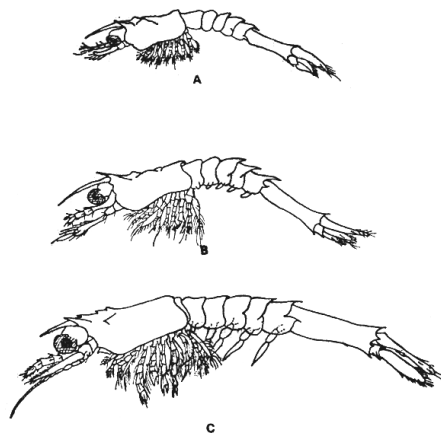
6.6.1.3 Mysis

Luego del tercer subestadio de Zoea las larvas mudan al estadio de Mysis, este estadio posee tres sub-estadios los cuales son Mysis I, II y III con duración total de tres días, un día por subestadio. Este estadio se caracteriza por la presencia de la zona abdominal encorvada que les permite desplazarse en el agua mediante contracciones abdominales, pereiópodos totalmente desarrollados, sin pleópodos en el primer subestadio (Figura 3) (González, 2022; Valarezo, 2016).

Su dieta suele ser constituida por alimento balanceado, microalgas y zooplancton con raciones de 4 a 6 diarias (Sarango, 2021).

Figura 3

Subestadios de Mysis



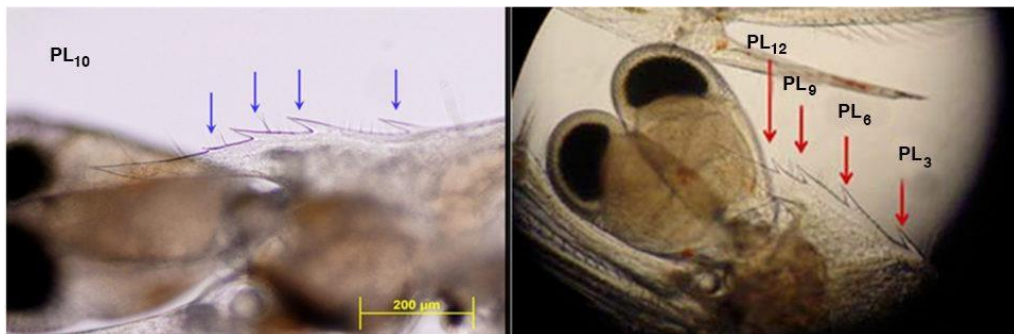
Nota. Diferencias morfológicas entre los subestadios de Mysis. Fenucci (1988).

6.6.1.4 Postlarvas

La etapa de postlarva comienza cuando el proceso de metamorfosis ha concluido y los organismos adquieren características de un adulto con la diferencia que su forma rostral y órganos reproductores aún no están desarrollados (Sarango, 2021). Al alcanzar una longitud de 5 mm, presentan de 3 a 4 dientes en la parte dorsal del rostro, además aparecen sedas en los pleópodos y pierden los exopoditos de los pereiópodos (Machado et al., 2020). Esta etapa tiene una duración de aproximadamente 20 días, hasta que las postlarvas se consideran camarones (postlarva 1; 20), con un tiempo aproximado de un día por subestadio. Su alimentación se basa en alimentos sólidos y artemia (Carvajal & Bolaños, 2015).

Figura 4

Postlarvas de camarón



Nota. Diferencias morfológicas en la etapa de postlarva. Limsuwan & Ching (2013).

CAPÍTULO III

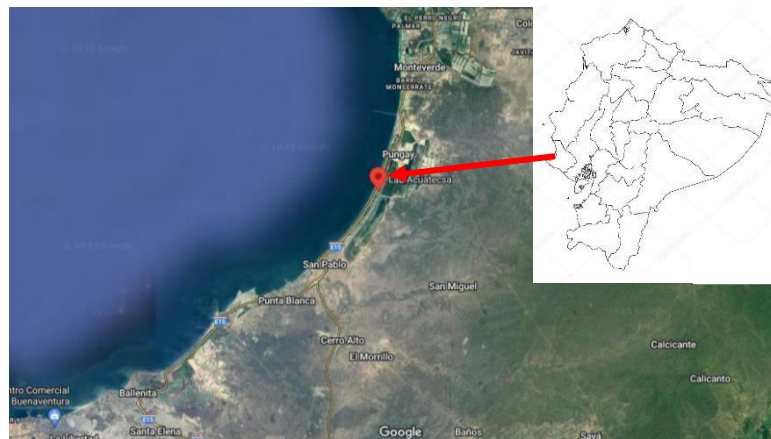
7. MARCO METODOLÓGICO

7.1 Área de estudio

El siguiente estudio se realizó en un laboratorio ubicado en la Vía San Pablo - Monteverde - Santa Elena - Ecuador entre la latitud de $2^{\circ}10'61''$ Sur, longitud $80^{\circ}74'75''$ Oeste (Figura 5). Su temperatura promedio anual de 25 grados centígrados y la precipitación media anual es 1694 mm.

Figura 5

Área de estudio ubicada en la comuna San Pablo provincia de Santa Elena



Nota. La imagen muestra la ubicación del laboratorio donde se realizó el estudio. Google Earth (2023).

7.2 Enfoque y tipo de investigación

El presente estudio es de tipo experimental, debido a que se pretende analizar el efecto de la combinación de probióticos comerciales aplicados en el alimento de postlarvas determinando la carga bacteriana y la supervivencia del organismo en cultivos intensivos. El trabajo fue realizado entre los meses de enero a abril del 2024.

7.3 Probióticos empleados

7.3.1 Probiótico comercial A

Es un producto que contiene bacterias aerobias que inhiben el desarrollo de bacterias patógenas, elimina los desechos contaminantes del agua como el amoníaco, aumenta la supervivencia y permite densidades de siembra más altas. Los microorganismos que componen este producto están presentes en la lista de microorganismos GRAS (Generally Recognized as Safe) cuya concentración es de 2.0E+09 cfu/gm.

7.3.2 Probiótico comercial B

Es un producto que contiene *Bacillus subtilis* (1.0E+06 cfu/gm), *Lactobacillus plantarum* (1.0E+06 cfu/gm), *Sacharomyces kudriavzevii* (1.0E+06 cfu/gm), bacterias y hongos de carácter benéfico natural que intervienen en los procesos biológicos del suelo, el agua activando la descomposición y degradación de materia

orgánica y aguas residuales, reduciendo el amonio, nitritos y nitratos en el agua, y actuando como estimulante del crecimiento.

7.3.3 Probiótico comercial C

Contiene bacterias ácido lácticas, mohos y levaduras $1.0E+12$ cfu/gm que actúan descomponiendo materia orgánica en el fondo de los tanques y controlando metabolitos tóxicos en el agua.

7.3.4 Probiótico comercial D

Combinación de bacterias aerobias que reducen los niveles de amonio en el agua, todos los microorganismos que componen este producto están presentes en la lista de microorganismos GRAS cuya concentración es de $4.0E+09$ cfu/gm, además gracias a su crecimiento y reproducción eficiente colonizan el tracto digestivo de las larvas generando una barrera de competencia excluyente que evita que los espacios libres sean aprovechados por bacterias patógenas.

7.3.5 Probiótico comercial E

Contiene altas concentraciones de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* ($2.0E+11$ cfu/gm) con la adición de vitaminas C y calcio, que actúan mejorando la digestión y la absorción de nutrientes, además, incrementa la inmunidad frente a organismos patógenos y mejora la resistencia a enfermedades.

7.3.6 Probiótico comercial F

Conjunto de *Bacillus subtilis* (1.0E+09 cfu/gm), *Lactobacillus lactis* (1.0E+09 cfu/gm), *Nitrosomonas sp.* (1.0E+09 cfu/gm), *Nitrobacter sp.* (1.0E+09 cfu/gm), que minimizan e inhibe la población y crecimiento de *Vibrio*, y minimizan los niveles de amoníaco y nitrato en el agua.

7.3.7 Probiótico comercial G

Contiene *Pediococcus acidolactici* (2.0E+09 cfu/gm), Vitamina E, Vitamina C y Selenio que estimula la respuesta inmunológica disminuyendo la actividad de patógenos, además coloniza el tracto digestivo mejorando la asimilación del alimento.

7.4 Diseño experimental

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) durante tres ciclos de producción de larvas de camarón, utilizando 7 probióticos comerciales con diferentes combinaciones, generando 3 tratamientos, descritos en la Tabla 1, los cuales fueron aplicados de forma aleatoria en tres tanques/ciclo. Los tanques experimentales poseen una capacidad operativa máxima de 21 toneladas métricas.

Tabla 1*Descripción de los tratamientos estudiados en la investigación*

| Tratamientos | Descripción |
|---------------------|--|
| T1 | Alimento balanceado + probiótico A, B, C, D y F |
| T2 | Alimento balanceado + probiótico A, B, C, E y G |
| T3 | Alimento balanceado + probiótico A, B, C, E, F y G |

7.5 Dosificación por tratamiento

Los probióticos B, D, E, F y G fueron mezclados con el alimento de las postlarvas y posteriormente aplicados en los tanques de producción de acuerdo a las dosis indicadas en las Tablas 2 a 4.

El probiótico A fue aplicado una vez previo a la siembra de los nauplios en los tanques de cada tratamiento. El probiótico B (líquido) fue suministrado cada 12 horas durante los estadios N-5 hasta Z2, a partir de Z3 hasta P12 se colocó cada 8 horas y a partir de P13 hasta cosecha se aplicó cada 12 horas. El probiótico C fue suministrado durante todo el cultivo cada 24 horas. Los probióticos D (tratamiento 1) y E (tratamiento 2 y 3) fueron administrados desde N-5 hasta P1-2 cada 12 horas. A partir de P1-3 hasta la cosecha se aplicaron los probióticos F para el tratamiento 1 y G para el tratamiento 2, en el tratamiento número 3 estos fueron alternados y aplicados cada 12 horas.

Tabla 2*Dosificación de los probióticos del tratamiento 1*

| Estadio | Dosis (ppm) Tratamiento 1 | | | | |
|-----------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Probiótico A | Probiótico B | Probiótico C | Probiótico D | Probiótico F |
| Nauplio 5 | 5 | 20 | 0,5 | 0,5 | - |
| Zoea 1 | - | 20 | 0,75 | 0,5 | - |
| Zoea 2 | - | 25 | 0,75 | 0,75 | - |
| Zoea 3 | - | 15 | 1 | 0,75 | - |
| Mysis 1 | - | 15 | 1 | 1 | - |
| Mysis 2 | - | 18 | 1,25 | 1 | - |
| Mysis 3 | - | 18 | 1,25 | 1 | - |
| Pl 1 – 2 | - | 20 | 1,5 | 1,25 | - |
| Pl 3 – 5 | - | 25 | 1,5 | - | 1,25 |
| Pl 6 – 8 | - | 30 | 1,75 | - | 1,5 |
| Pl 9 -10 | - | 30 | 2 | - | 1,5 |

Nota. La dosificación de los probióticos fue realizada en función a las recomendaciones del técnico de producción.

Tabla 3*Dosificación de los probióticos del tratamiento 2*

| Estadio | Dosis (ppm) Tratamiento 2 | | | | |
|-----------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Probiótico A | Probiótico B | Probiótico C | Probiótico E | Probiótico G |
| Nauplio 5 | 5 | 20 | 0,5 | 0,5 | - |
| Zoea 1 | - | 20 | 0,75 | 0,5 | - |
| Zoea 2 | - | 25 | 0,75 | 0,75 | - |
| Zoea 3 | - | 15 | 1 | 0,75 | - |
| Mysis 1 | - | 15 | 1 | 1 | - |
| Mysis 2 | - | 18 | 1,25 | 1 | - |
| Mysis 3 | - | 18 | 1,25 | 1 | - |
| Pl 1 – 2 | - | 20 | 1,5 | 1,25 | - |
| Pl 3 – 5 | - | 25 | 1,5 | - | 1,25 |
| Pl 6 – 8 | - | 30 | 1,75 | - | 1,5 |
| Pl 9 -10 | - | 30 | 2 | - | 1,5 |

Nota. La dosificación de los probióticos fue realizada en función a las recomendaciones del técnico de producción.

Tabla 4*Dosificación de los probióticos del tratamiento 3*

| Estadio | Dosis (ppm) Tratamiento 3 | | | | |
|-----------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| | Probiótico A | Probiótico B | Probiótico C | Probiótico E | Probiótico F/G |
| Nauplio 5 | 5 | 20 | 0,5 | 0,5 | - |
| Zoea 1 | - | 20 | 0,75 | 0,5 | - |
| Zoea 2 | - | 25 | 0,75 | 0,75 | - |
| Zoea 3 | - | 15 | 1 | 0,75 | - |
| Mysis 1 | - | 15 | 1 | 1 | - |
| Mysis 2 | - | 18 | 1,25 | 1 | - |
| Mysis 3 | - | 18 | 1,25 | 1 | - |
| Pl 1 – 2 | - | 20 | 1,5 | 1,25 | - |
| Pl 3 – 5 | - | 25 | 1,5 | - | 1,25 |
| Pl 6 – 8 | - | 30 | 1,75 | - | 1,5 |
| Pl 9 -10 | - | 30 | 2 | - | 1,5 |

Nota. La dosificación de los probióticos fue realizada en función a las recomendaciones del técnico de producción.

7.6 Población de estudio

Las larvas sembradas en los tanques de producción y experimentación siguieron el mismo protocolo de manejo del laboratorio, que incluía condiciones uniformes de limpieza, desinfección, recepción, siembra, alimentación, y adición de otros métodos profilácticos como ácidos orgánicos y aceites esenciales. Los nauplios fueron distribuidos aleatoriamente a los tanques, utilizando un tanque por tratamiento durante los tres ciclos de producción. A continuación, se describen la población y las densidades de siembra:

Tabla 5

Población y densidad de siembra por tratamiento

| Ciclo | Tratamiento 1 | | Tratamiento 2 | | Tratamiento 3 | |
|-------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| | Población | Densidad N/L | Población | Densidad N/L | Población | Densidad N/L |
| 1 | 2,666,000 | 266 | 2,666,000 | 266 | 5,000,000 | 357 |
| 2 | 2,800,000 | 280 | 3,630,000 | 363 | 3,130,000 | 313 |
| 3 | 2,765,000 | 276 | 2,666,000 | 266 | 2,666,000 | 266 |

7.7 Activación y modo de aplicación de probióticos

Probiótico A: Se debe hidratar y oxigenar durante 24 horas, su aplicación es directa al agua.

Probiótico B: En el estadio N5 se administra el probiótico sin activación, mientras que desde el Z1 en adelante se lleva a cabo la activación mediante fermentación durante 24 horas. Se debe mezclar 1 litro del producto con 1 litro de melaza y 18 litros de agua a 27 ppt de salinidad.

Probiótico C: No requiere activación, su aplicación es directa al agua.

Probiótico D: No requiere activación, se aplica junto al alimento.

Probiótico E: No requiere activación, se aplica junto al alimento.

Probiótico F: No requiere activación, se aplica junto al alimento.

Probiótico G: No requiere activación, se aplica junto al alimento.

7.8 Dieta de postlarvas

Las postlarvas fueron alimentadas cada 4 horas en los subestadios Zoea I y II, a partir de Zoea III en adelante se proporcionó alimento cada 3 horas.

7.9 Bacteriología de postlarvas

Para realizar el análisis bacteriológico se utilizaron Agar TCBS, Agar TSA, Chromagenic Agar *Vibrio* y Chromagar *Pseudomona* como medios de cultivo para determinar la presencia de *Vibrio spp.* y *Pseudomona spp.* en las postlarvas. Se tomaron 6 muestras por tratamiento (Zoea 3, Mysis 3, Postlarva 2, 4 ,6, 8) dando un total de 24 muestras por ciclo de producción.

7.10 Preparación de medios de cultivo

Para la preparación de los medios de cultivo se siguió la metodología de CESASIN (2003) descrita en el manual de Técnicas de bacteriología, facilitada y utilizada por la empresa.

7.10.1 Agar TCBS

Para la preparación de 40 placas, se utilizaron 71,2 gramos de agar TCBS, los cuales se disolvieron en 800 ml de agua destilada en un Matraz de Erlenmeyer. Para garantizar una solución homogénea, el contenido se calentó en una hornilla hasta alcanzar el punto de ebullición (tres veces). Durante este proceso, es fundamental agitar regularmente para asegurarse de que el contenido se disuelva por completo. Una vez lograda la disolución, se procede a verter el contenido en placas Petri, aproximadamente 20 ml por cada placa.

7.10.2 Chromagenic Agar *Vibrio*

Para preparar 40 placas se utilizaron 72 gramos del agar disueltos en 800 ml de agua destilada. Se calentó el contenido hasta alcanzar el punto de ebullición (tres veces). Durante el proceso se agitó regularmente contenido para disolver completamente. Posteriormente se aplicó el contenido en placas Petri aproximadamente 20 ml/placa.

7.10.3 CHROMagar *Pseudomona*

Para preparar 40 placas se utilizó 36.4 gramos de CHROMagar *Pseudomona* y 800 ml de agua destilada. Se calentó el contenido hasta el punto de ebullición (tres veces) y se agitó para homogeneizar la solución. Posteriormente se aplicó el contenido en placas Petri aproximadamente 20 ml/placa.

7.10.4 Agar TSA

Para preparar 40 placas se necesitaron 32 gramos de agar TSA, los cuales fueron disueltos en 800 ml de agua destilada. Posteriormente se esterilizó la mezcla en autoclave a 120 °C durante 15 minutos. A continuación, se aplicó aproximadamente 20 ml del contenido en placas de Petri.

7.11 Inoculación de muestras

Para la inoculación de las muestras se utilizó la metodología detallada por CESASIN (2003) y Maura (2023) adaptada a las condiciones de trabajo en el laboratorio, que consistió en coleccionar las muestras de postlarvas de cada tratamiento, que fueron filtradas utilizando una malla de 10 micras y desinfectadas con agua destilada. Luego se colocó 1 g de la muestra y 900 µl de solución salina esterilizada al 2.5% en tubos Eppendorf realizando el respectivo macerado. Posteriormente, se centrifugó durante 15 segundos para que los residuos se sedimenten y obtener la muestra del líquido sobrenadante.

Se utilizó una micropipeta para inocular 100 µl de la muestra en las cajas Petri con Agar TCBS, Agar TSA, Chromagar Agar *Vibrio* y Chromagar *Pseudomona*. Las muestras fueron sembradas en el agar con ayuda de asas de Drigalsky. Luego, se colocaron las placas en una incubadora durante 24 horas a 33 °C.

7.12 Estimación de unidades formadoras de colonias

La principal característica para la identificación de colonias es su coloración. En el agar TCBS se presentan colonias verdes y amarillas. En el Chromagar *Vibrio*, y de acuerdo a la ficha técnica del producto, es posible identificar *V. parahaemolyticus* (verde azulado), *V. vulnificus* (rosa), y *V. alginolyticus* (crema). En el Chromagar *Pseudomona* se presentan colonias con color verde azulado intenso. En el agar TSA se desarrollan colonias de color beige. Para realizar el conteo de colonias se procede a establecer las Unidades Formadoras de Colonias mediante la siguiente fórmula:

$$UFC = \frac{\text{Número de colonias} \times \text{Factor de dilución}}{ml}$$

Tabla 6

Valores referenciales de UFC en postlarvas de camarón.

| Medio de cultivo | Colonia | Valores normales | Valores severos |
|-----------------------------|----------------------------|------------------|-----------------|
| Agar TCBS | Amarillas | $\leq 10^2$ | $> 10^3$ |
| Agar TCBS | Verdes | $\leq 10^2$ | $> 10^3$ |
| Agar TSA | Totales | $\leq 10^4$ | $> 10^6$ |
| <i>Chromagar Vibrio</i> | <i>V. alginolyticus</i> | $\leq 10^2$ | $> 10^3$ |
| <i>Chromagar Vibrio</i> | <i>V. parahaemolyticus</i> | $\leq 10^1$ | $> 10^2$ |
| <i>Chromagar Vibrio</i> | <i>V. vulnificus</i> | $\leq 10^1$ | $> 10^1$ |
| <i>Chromagar Pseudomona</i> | <i>Pseudomona</i> | $\leq 10^2$ | $> 10^3$ |

Nota. Los valores expuestos corresponden al registro histórico del Laboratorio de Microbiología de la empresa.

7.13 Parámetros fisicoquímicos

Para el monitoreo de los parámetros fisicoquímicos del agua se emplearon los siguientes instrumentos: el oxigenómetro YSI Pro 20i para medir la temperatura (°C) y el oxígeno disuelto (mg/l), el medidor de salinidad impermeable HI98319 para la salinidad (ppt), el medidor de pH/ORP HI98121 para la medición del pH.

7.14 Determinación de supervivencia

El cálculo del porcentaje de supervivencia se determinó al final del cultivo como relación entre la cantidad sembrada final y la cantidad sembrada inicial de las larvas.

$$Supervivencia (\%) = \left[\frac{\text{población final}}{\text{población inicial}} \right] \times 100$$

7.15 Análisis microscópico de *L. vannamei*

Se realizaron análisis en fresco de cada tratamiento tomando muestras para observar mediante el microscopio las características externas de las postlarvas en los estadíos Z1 a Z3:

Tabla 7*Criterios para análisis de calidad de Zoea 1 a Zoea 3*

| Análisis general para el control de calidad | | |
|--|---------------------------------|-------------------|
| Criterio | Evaluación de la calidad | Puntuación |
| Actividad natatoria | Activa (>95%) | 10 |
| | Intermedia (70-95%) | 5 |
| | Débil (en el fondo) (<70%) | 0 |
| Contenido intestinal | Lleno (>95%) | 10 |
| | Moderado (70-95%) | 5 |
| | Vacío (<70%) | 0 |
| Color de hepatopáncreas | Oscuro | 10 |
| | Pálido | 5 |
| | Transparente | 0 |
| Necrosis | Ausencia (0%) | 10 |
| | Moderado (<15%) | 5 |
| | Severo (>15%) | 0 |
| Deformidades | Ausencia (<5%) | 10 |
| | Moderado (5-10%) | 5 |
| | Severo (>10%) | 0 |

Nota. Los criterios de calidad de larvas fueron analizados de acuerdo a la información disponible en el Manual de larvicultura de Skretting (2018).

7.16 Análisis estadístico

Para comprobar la normalidad de los datos generados durante los tres ciclos de producción se utilizó la prueba de Anderson Darling; mientras que para la validación de la hipótesis se realizó el Análisis de varianza (Anova) con el fin de evidenciar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, con un nivel de significancia de 0.05. Posteriormente, se utilizó el Test de Tukey para comparar diferencias entre los tratamientos aplicados y la identificación del mejor tratamiento. Las herramientas fueron ejecutadas mediante el programa estadístico Minitab 18. Se utilizó el método de correlación de Pearson para determinar la relación entre la supervivencia y los parámetros físicoquímicos del agua. Adicionalmente, los parámetros del agua fueron analizados mediante estadística descriptiva. Finalmente, se utilizó el método de Dunnett para comparar la presencia de la carga bacteriana con los rangos referenciales normales.

8. RESULTADOS

Se llevaron a cabo tres tratamientos diferentes que implicaron la incorporación de probióticos comerciales en la dieta de las larvas de camarón *L. vannamei* durante tres ciclos de producción. Los tratamientos aplicados permitieron obtener los siguientes resultados:

8.1 Carga bacteriana de las postlarvas *L. vannamei*

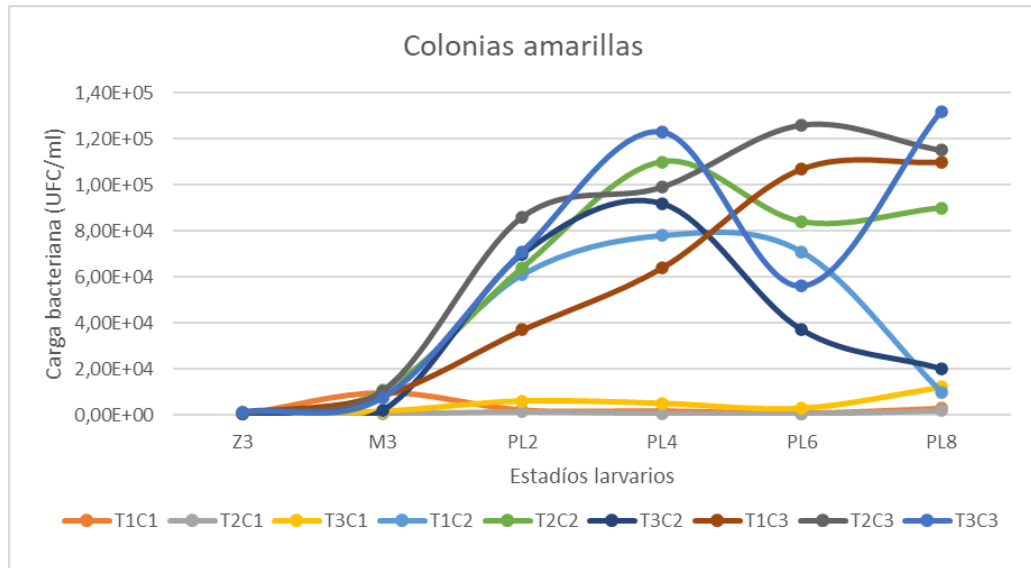
Para determinar los rangos máximos y mínimos de carga bacteriana por tratamiento se consideró datos cuantitativos a partir de datos cualitativos en función a la coloración.

8.1.1 Colonias amarillas

En las colonias de color amarillo (Figura 6), se observó la mayor carga en el primer ciclo en el T3 con $1.20E+04$, mientras que, la carga más baja registrada fue de $1.40E+03$ en T2. En el segundo ciclo la carga más alta fue de $1.10E+05$ en T2 P14, la más baja fue de $1.00E+04$ en P18 T1. Por otro lado, la carga más alta registrada en el tercer ciclo fue $1.32E+05$ en P18 T3 y la más baja de $3.70E+04$ en P12 T1.

Figura 6

Presencia de colonias amarillas por cada tratamiento experimental y ciclo de producción

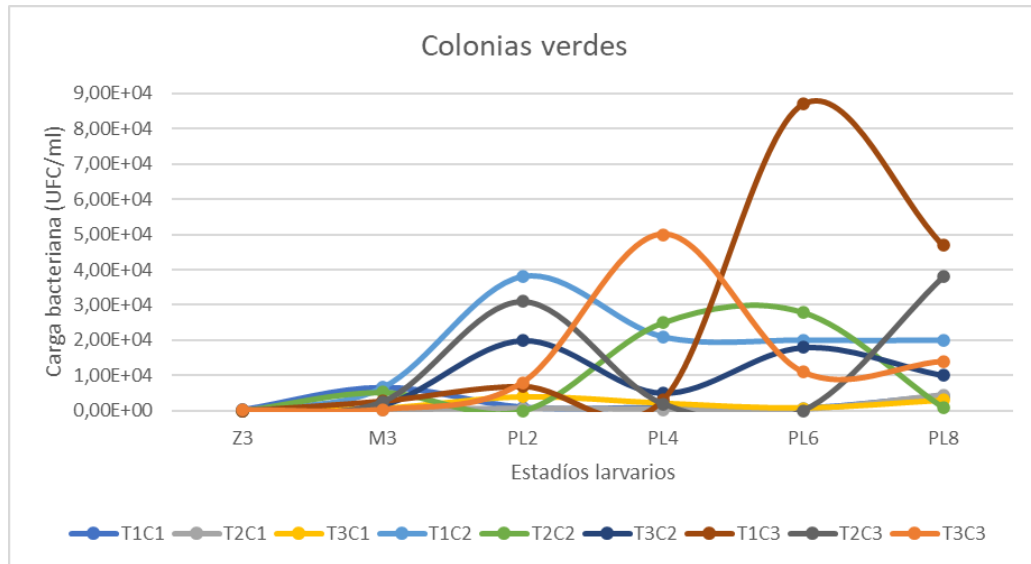


8.1.2 Colonias verdes

En el caso de las colonias verdes (Figura 7), en el primer ciclo la carga más alta registrada fue $4.50E+03$ en PL8 y la más baja $3.20E+02$ en PL6, ambas en T2. En el segundo ciclo la más alta se presentó en PL2 con $3.80+04$ en T1, la más baja fue $0.00E+00$ en PL2 y $1.00E+03$ en PL8 T2. En el tercer ciclo la más alta se observó en PL6 T1 con $8.70E+04$, mientras que la más baja se registró en T2 con $0.00E+00$ en PL6.

Figura 7

Presencia de colonias verdes por cada tratamiento experimental y ciclo de producción

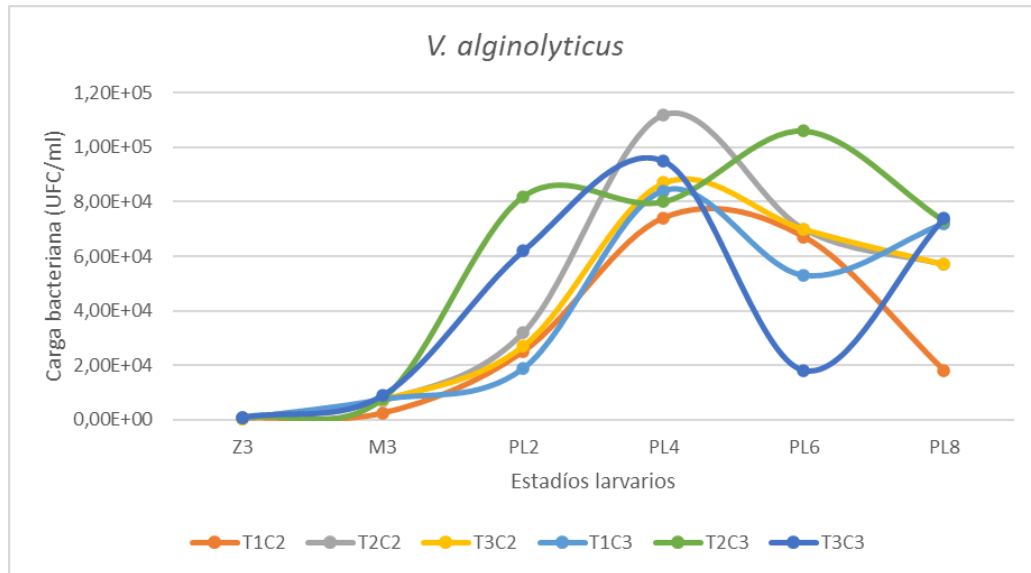


8.1.3 *V. alginolyticus*

Para *V. alginolyticus*, en el segundo ciclo, se detectó la carga más elevada en T2, llegando a $1.12E+05$ en el estadio PL4, por otro lado, el valor más bajo se observó en T1 en PL8 con $1.80E+04$. En el tercer ciclo, la carga más alta se presentó en el T3, alcanzando $9.50E+04$ en PL4. Sin embargo, en ese mismo tanque, se registró la carga más baja con $1.80E+04$ en PL6 como se muestra en la Figura 8.

Figura 8

Carga bacteriana de V. alginolyticus por cada tratamiento experimental y ciclo de producción

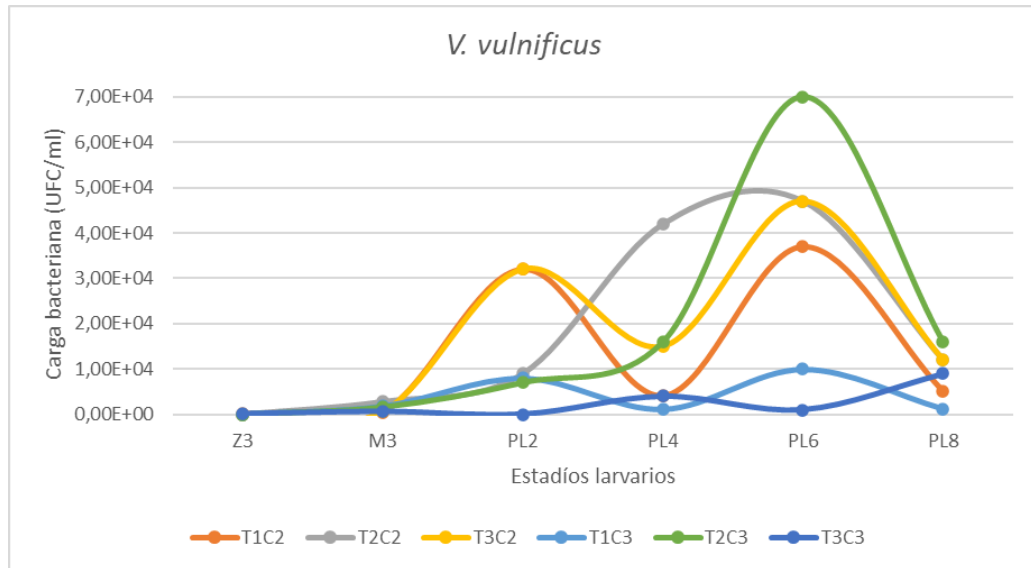


8.1.4 *V. vulnificus*

En el segundo ciclo del estudio, se observaron cargas más elevadas de *V. vulnificus* en T2 y T3 en el estadio PL6, alcanzando 4.70E+04, mientras que la carga más baja se detectó en T1 en PL4, con 4.00 E+03. En el tercer ciclo, se registró la carga más alta en T 2 en PL6, con 7.00E+04, mientras que, en T3 mostró las cargas más bajas, con a 0.00E+00 en PL2 y 1.00E+03 en PL6 como se muestra en la Figura 9.

Figura 9

Carga bacteriana de V. vulnificus por cada tratamiento experimental y ciclo de producción

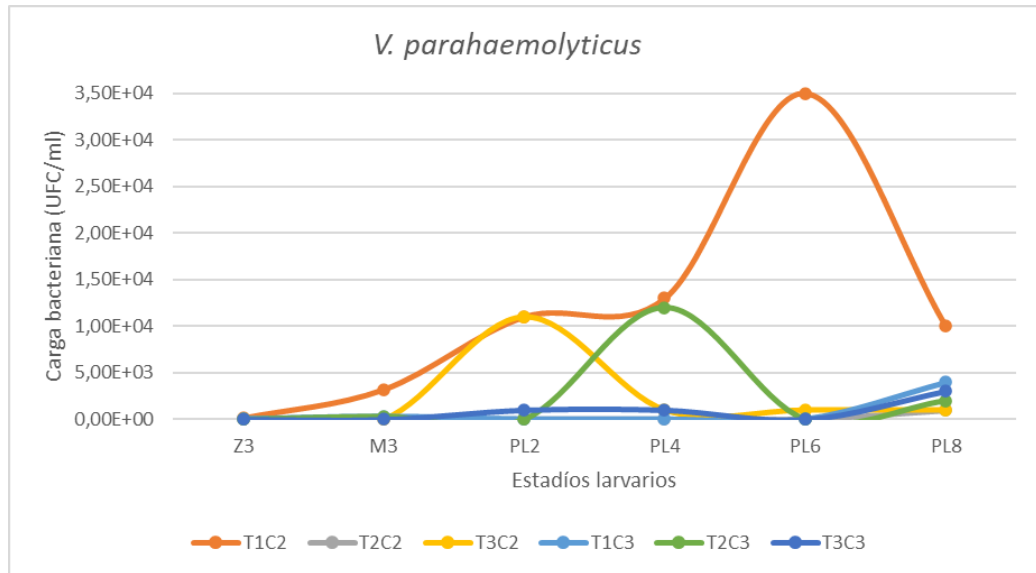


8.1.5 *V. parahaemolyticus*

En relación con *V. parahaemolyticus*, durante el segundo ciclo del estudio, se registró la carga más alta en T1, alcanzando 3.50E+04, mientras que en el T2 se mantuvo en 0.00E+00 hasta llegar a Pl6, en Pl8 se registró 1.00E+03. En el tercer ciclo, la carga más elevada se observó en T2 en Pl4, con 1.20E+04; en contraste, en T1, las cargas se mantuvieron en 0.00E+00 desde Pl2 hasta Pl6 como se muestra en la Figura 10.

Figura 10

Carga bacteriana de V. parahaemolyticus por cada tratamiento experimental y ciclo de producción

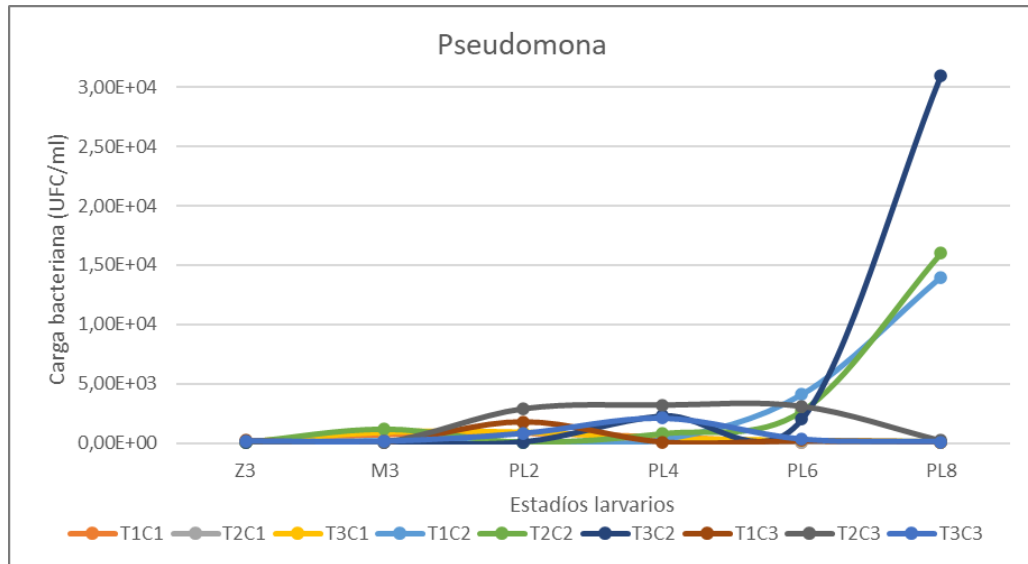


8.1.6 *Pseudomonas*

La carga más alta de pseudomonas en el primer ciclo fue 9.00E+02 en T3 en P12, mientras que las cargas más bajas fueron obtenidas en P18 con 1.00E+02 en los tres tratamientos. En el segundo ciclo la más alta fue en T3 P18 con 3.10E+04 y la más baja 1.00E+02 en P12 de todos los tratamientos. En el tercer ciclo la más alta fue 3.20E+03 en P14 T2, las más bajas en T1 y T3 1.00E+02 P18 como se muestra en la Figura 11.

Figura 11

Presencia de Pseudomonas por cada tratamiento experimental y ciclo de producción

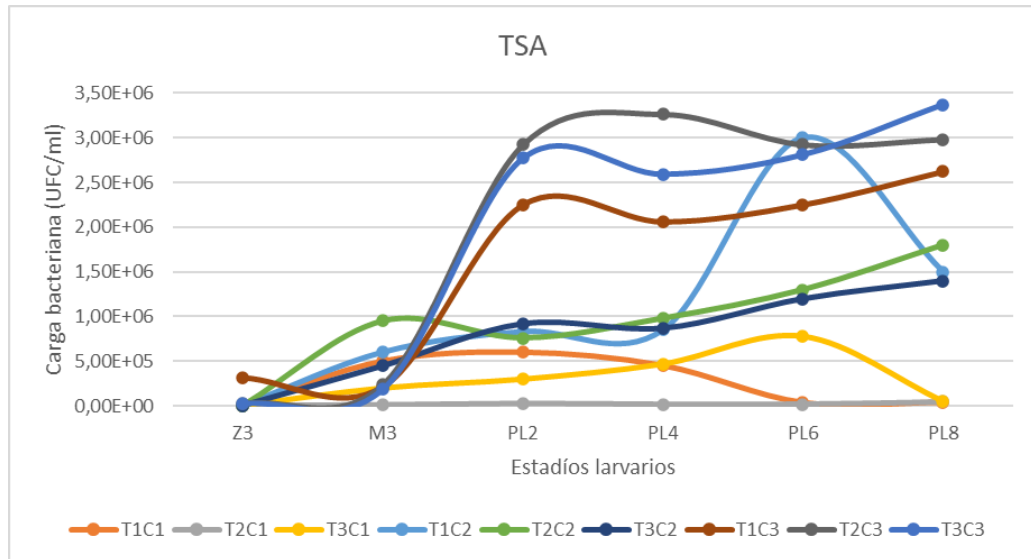


8.1.7 Bacterias totales

Para el caso de las bacterias totales se registró la carga más alta en el primer ciclo con $7.80E+05$ T3 en PL6 y la más baja con $1.80E+04$ T2 en PL4. En el segundo ciclo se registró la carga más alta con $3.00E+06$ T1 en PL6 y la más baja $7.60E+05$ T2 en PL2. En el tercer ciclo la más alta fue $3.37E+06$ en el T3 en PL8 y la más baja fue $2.06E+06$ T1 en PL4 como se muestra en la Figura 12.

Figura 12

Presencia de colonias amarillas por cada tratamiento experimental y ciclo de producción



8.2 Relación de parámetros físicos – químicos con la supervivencia

Los datos obtenidos fueron registrados para obtener un promedio diario durante los diferentes estadios larvales desde Nauplio V hasta Pl 9.

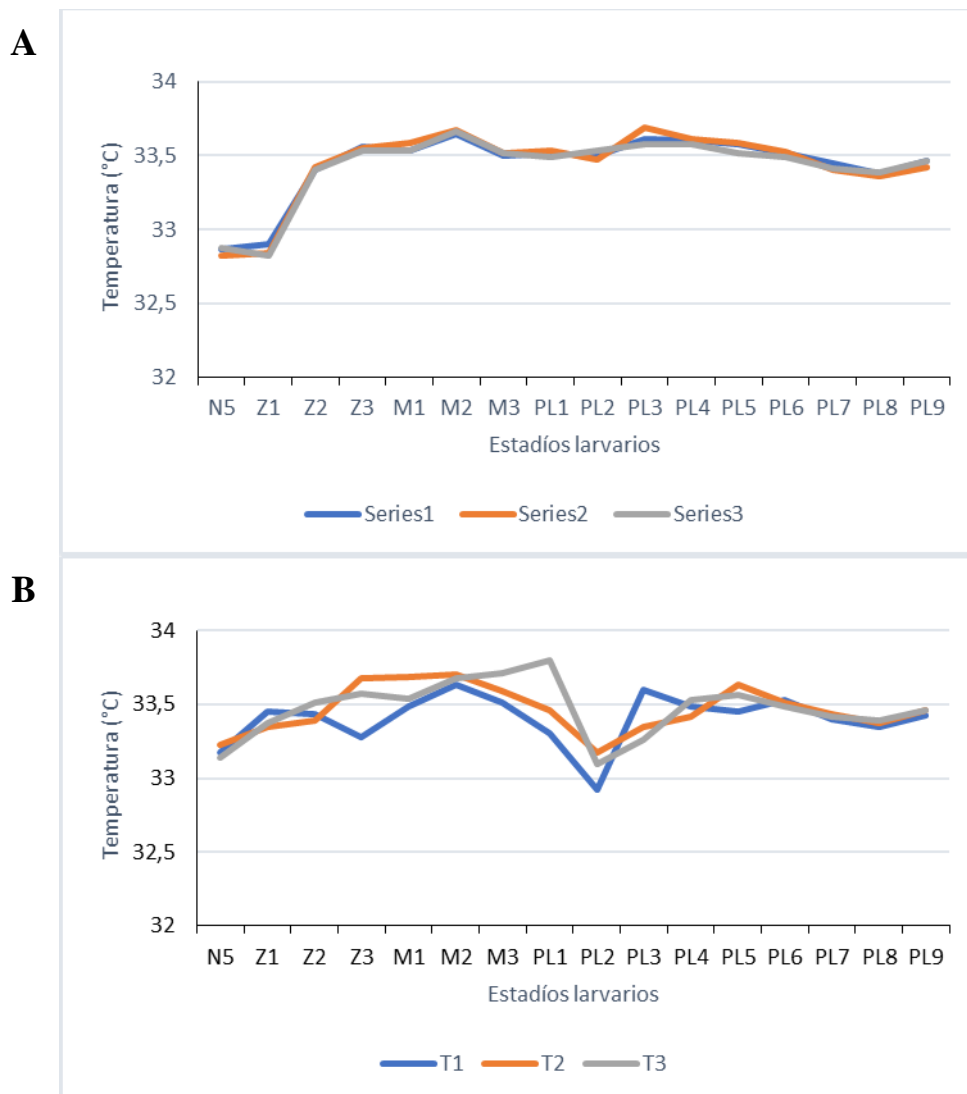
8.2.1 Temperatura

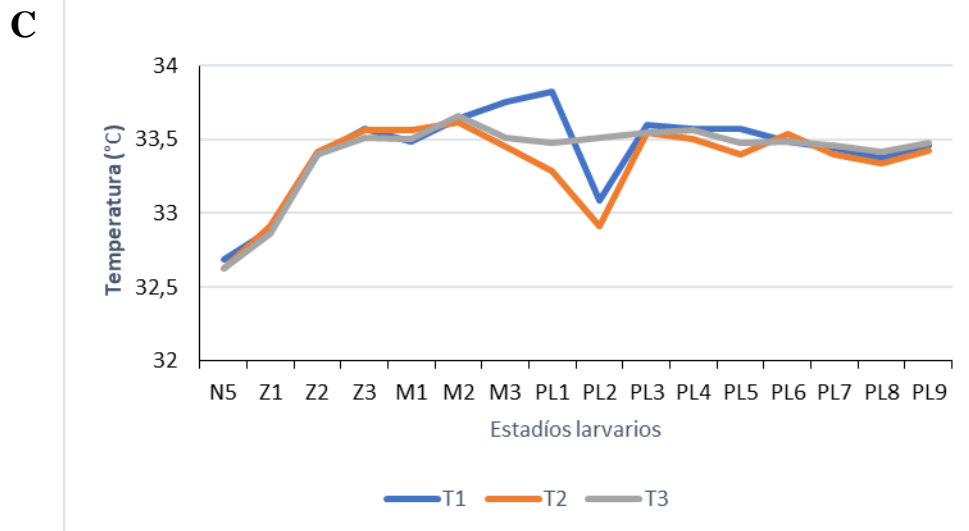
Durante la investigación, los registros de temperatura en el cultivo de larvas *L. vannamei*, como se muestra en la Figura 13, el promedio de temperatura en el primer ciclo fue de 33.43, en el segundo 33.44 y en el tercero fue de 33.39.

El promedio de temperatura diaria más alto fue de 33.82°C, registrado en T1C3, en el estadio P11. Por otro lado, la temperatura más baja, de 32.62 °C, se observó en los tanques del T2C3 y T3C3, en el estadio N5. La temperatura se mantuvo dentro de los rangos óptimos en los tres ciclos de producción.

Figura 13

Promedios de temperatura por estadio de los tres ciclos de producción





Nota. Promedio diario de temperatura obtenidos en los tres ciclos para cada tratamiento.

A) ciclo 1, B) ciclo 2 y C) ciclo 3.

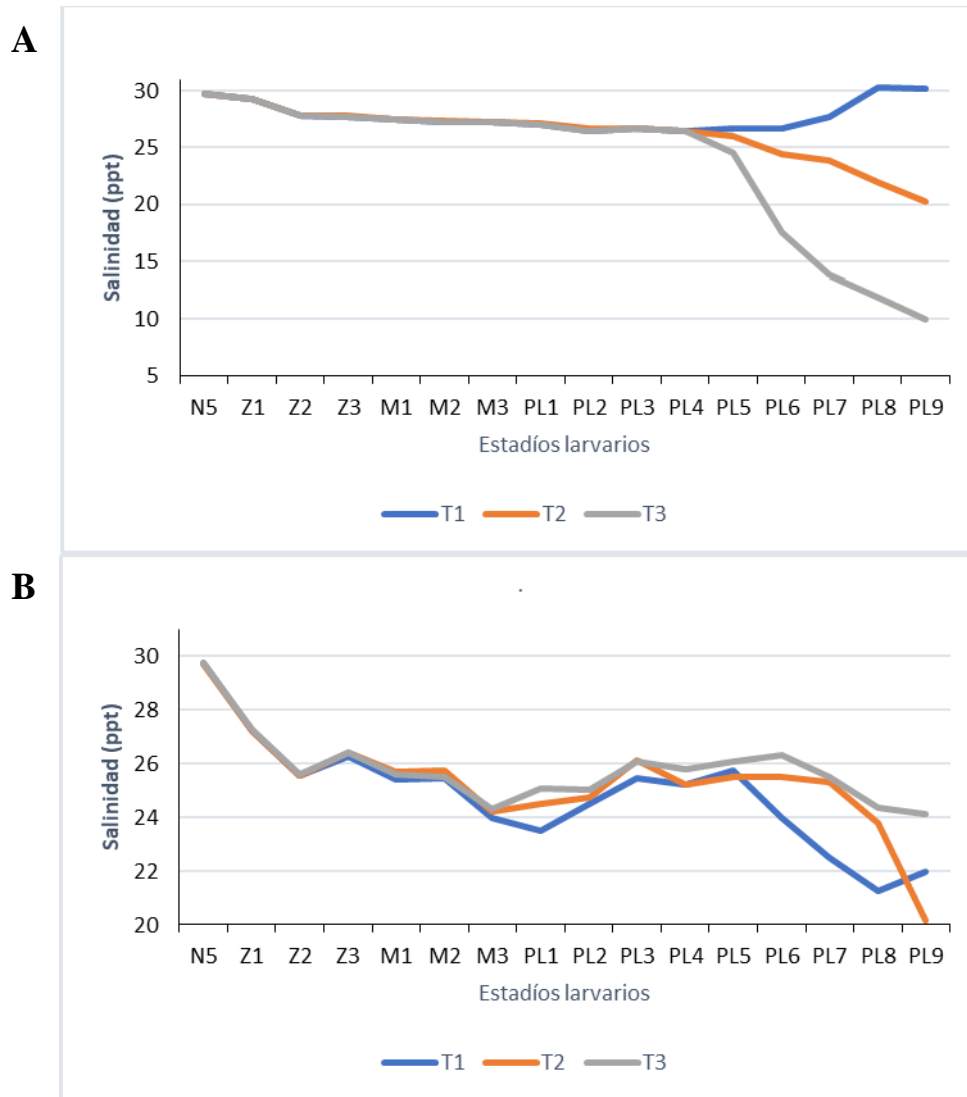
8.2.2 Salinidad

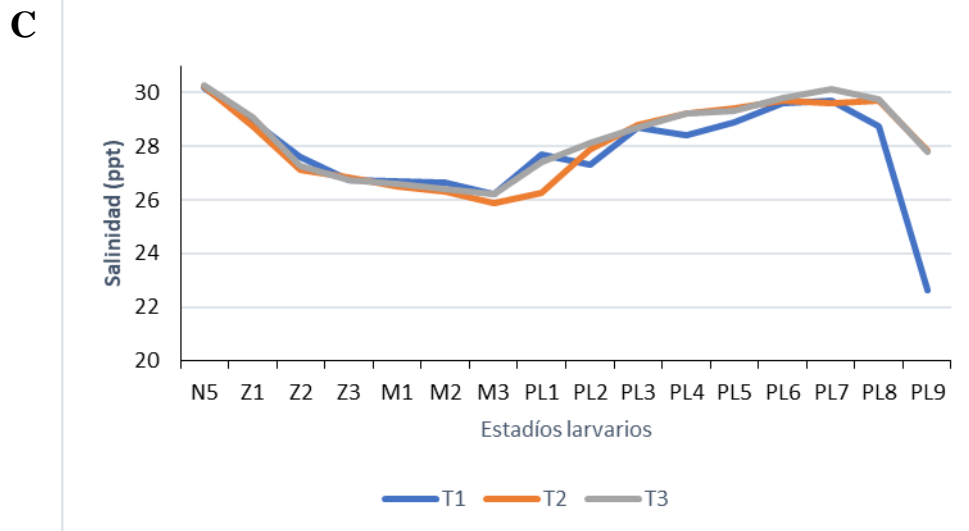
Los promedios diarios más altos en nauplio V se presentaron en el tercer ciclo con un promedio de 30,15 ppt en T1, 30,20 ppt en el T2 y 30,25 ppt en T3. Los datos de salinidad obtenidos durante la investigación se observan en la Figura 14, el promedio de salinidad más alto en el primer ciclo fue 27.79 ppt en T1 y el más bajo 23.81 ppt en el T3. En el segundo ciclo el más alto fue 25.8 ppt en el T3 y el más bajo 24.83 ppt en el T1. En el tercer ciclo el más alto fue 28.29 ppt en el T3 y el más bajo 27.79 ppt en el T1.

Al alcanzar el estadio postlarva, se reduce la salinidad en base a los requerimientos de cada productor camaronero. El valor de salinidad más bajo se evidenció en T3 del primer ciclo con 10,05 ppt en el estadio P19. Durante toda la investigación, la salinidad se mantuvo dentro de los rangos recomendados para cada estadio larvario.

Figura 14

Promedios de salinidad por estadio de los tres ciclos de producción





Nota. Promedio diario de salinidad obtenidos en los tres ciclos para cada tratamiento. A) ciclo 1, B) ciclo 2 y C) ciclo 3.

8.2.3 Oxígeno disuelto

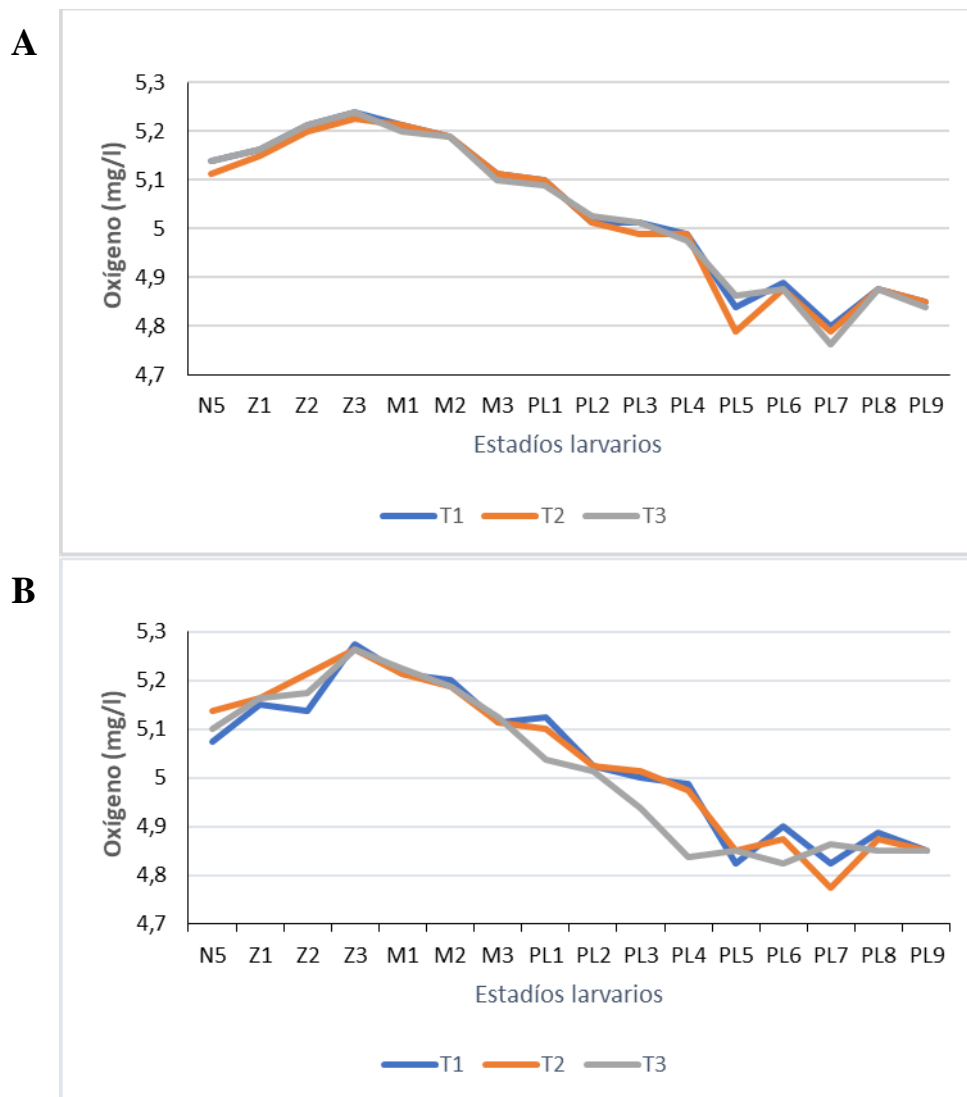
En la Figura 15 se muestra la concentración de oxígeno disuelto en mg/l para cada tratamiento a lo largo de los tres ciclos de producción. El promedio de temperatura más alto en el primer ciclo fue 4.85 mg/l en T1 y T2 el más bajo 4.83 mg/l en el T3. En el segundo ciclo el más alto fue 5.039 mg/l en T2 y el más bajo 5.017 mg/l en T3. En el tercer ciclo el más alto fue 5.17 mg/l en T2 y el más bajo 5.15 mg/l en T1 y T3.

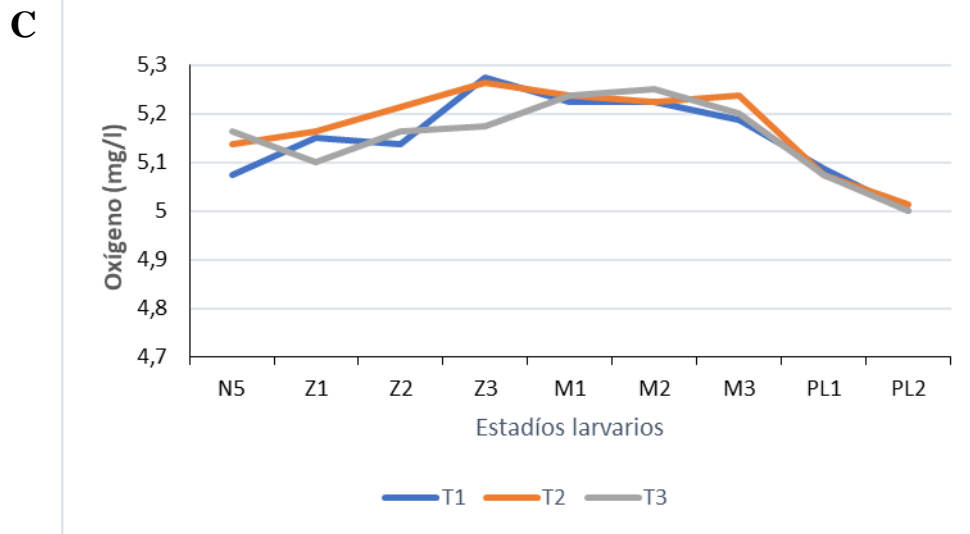
Se registró la mayor concentración de oxígeno disuelto en el tanque correspondiente al T1 durante el segundo ciclo, con 5.27 mg/l, en el estadio Z3. En contraste, la menor concentración se observó en el tanque del T3 durante el primer ciclo, con

4.76 mg/l, en el estadio P17. La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo dentro de los rangos apropiados para el cultivo de larvas.

Figura 15

Promedio de oxígeno disuelto por estadio de los tres ciclos de producción





Nota. Promedio diario de oxígeno disuelto obtenidos en los tres ciclos para cada tratamiento. A) ciclo 1, B) ciclo 2 y C) ciclo 3.

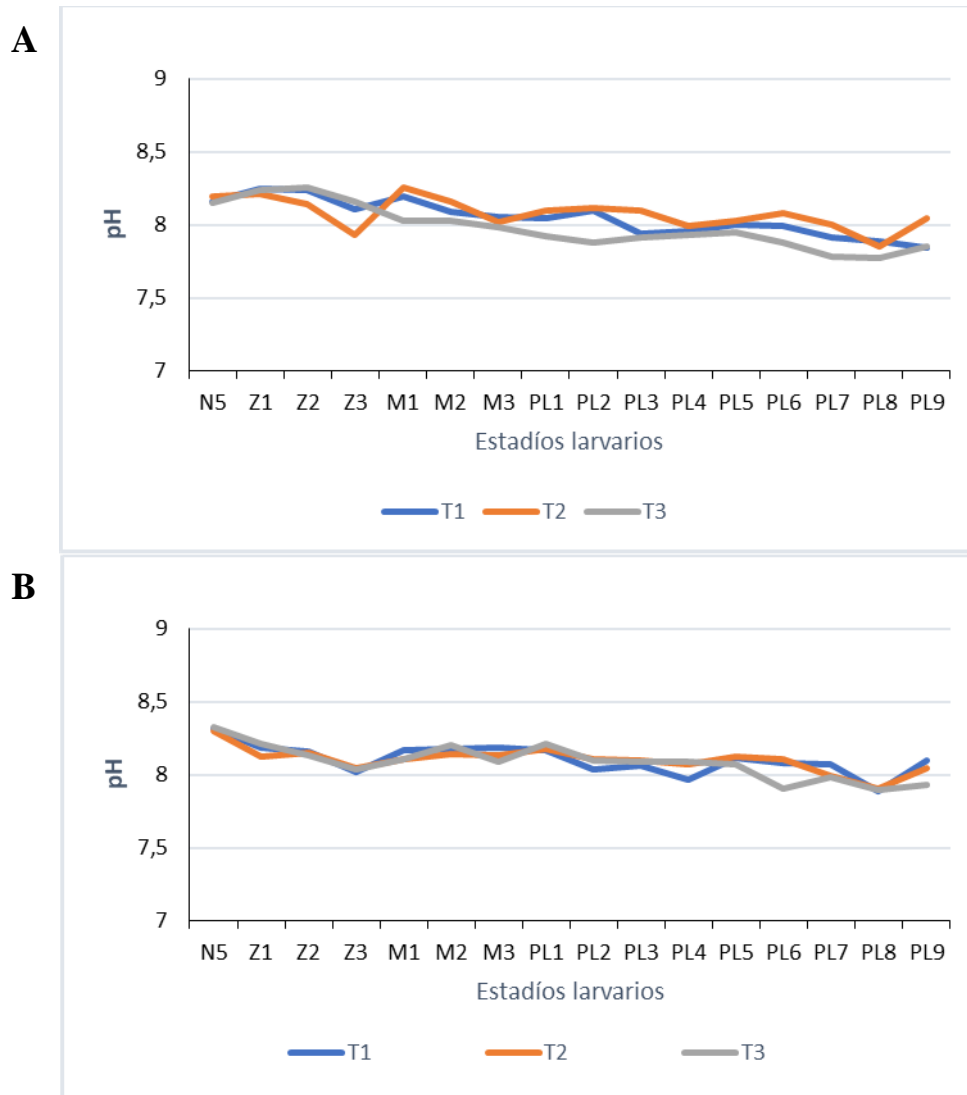
8.2.4 pH

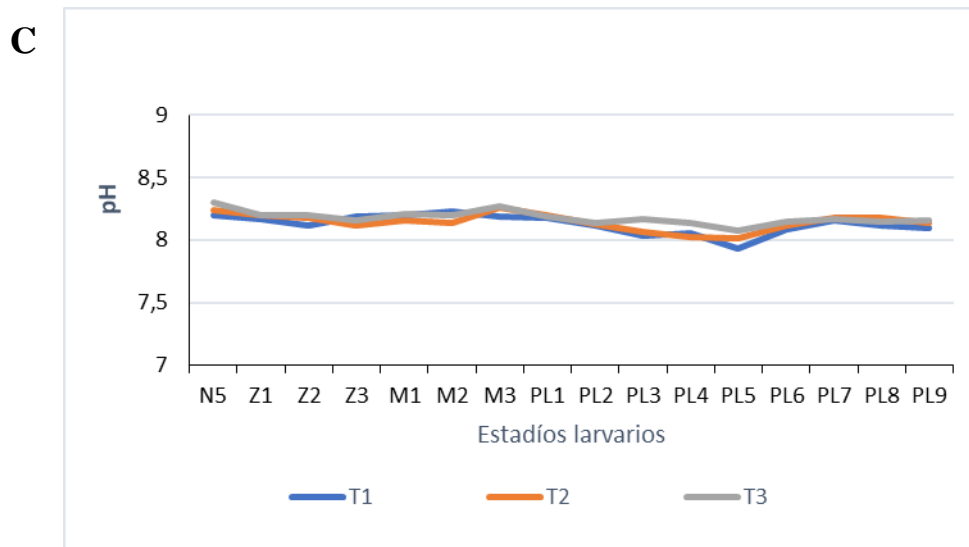
Los datos de pH registrados durante los tres ciclos de producción, tal como se ilustra en la Figura 16, el promedio de pH más alto en el primer ciclo fue 8.07 en T2 y el más bajo 7.98 en T3. En el segundo ciclo el más alto fue 8.10 en T1 y el más bajo 8.08 en T3. En el tercer ciclo el más alto fue 8.17 en el T3 y el más bajo 8.12 en el T1.

El valor más alto registrado fue de 8.32 fue en T3C2, en el estadio N5. Por otro lado, el valor más bajo, fue 7.77 en T3C1 estadio PL9. El pH se mantuvo dentro de los rangos óptimos durante los tres ciclos de producción.

Figura 16

Promedios de pH por estadio de los tres ciclos de producción





Nota. Promedio diario de pH obtenidos en los tres ciclos para cada tratamiento. A) ciclo 1, B) ciclo 2 y C) ciclo 3.

8.2.5 Correlación de las variables

En la Figura 17 se muestra la relación de los parámetros físicoquímicos del agua de los sistemas de producción en los tratamientos experimentales versus la supervivencia de las larvas de camarón.

En el caso de Temperatura vs Supervivencia se presentó una correlación positiva moderada (0.441) en la que ambas variables tienden a aumentar, de igual forma en la Salinidad vs Supervivencia (0.430). El Oxígeno disuelto vs Supervivencia mostró una correlación negativa muy baja (-0.129) debido a que una variable aumenta y la otra disminuye. En el pH vs Supervivencia se observó una correlación positiva baja (0.369) como se muestra en la Figura 18.

Figura 17

Dispersión de porcentaje de Supervivencia vs Parámetros de calidad de agua

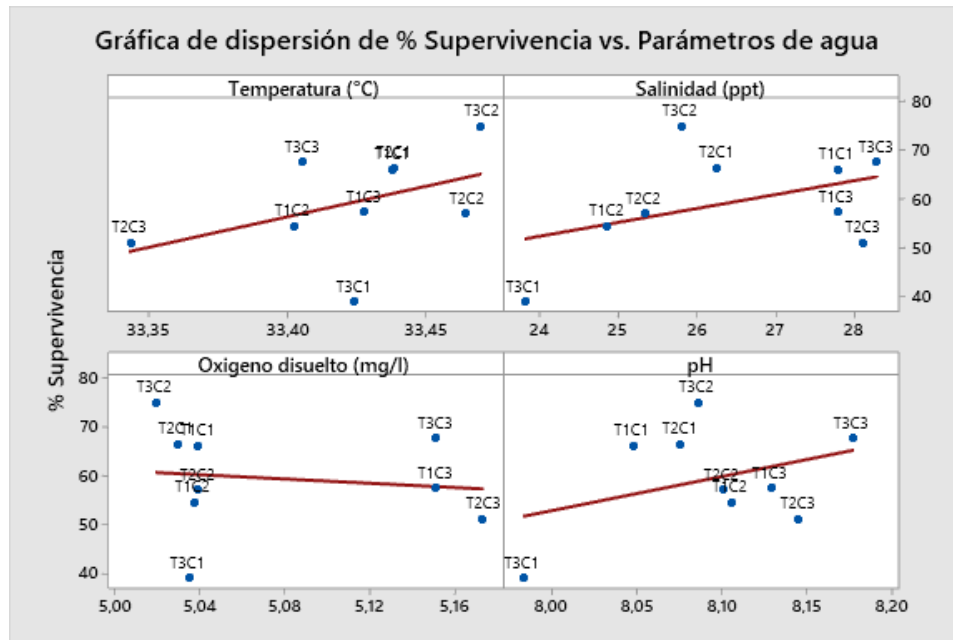


Figura 18

Correlación de Pearson de datos de Supervivencia vs Temperatura, Salinidad, Oxígeno disuelto y pH

Correlaciones en parejas de Pearson

| Muestra 1 | Muestra 2 | Correlación |
|-------------------------|-----------------|-------------|
| Temperatura (°C) | % Supervivencia | 0,441 |
| Salinidad (ppt) | % Supervivencia | 0,430 |
| Oxígeno disuelto (mg/l) | % Supervivencia | -0,129 |
| pH | % Supervivencia | 0,369 |

8.3 Análisis de dinámica de crecimiento bacteriano y tasa de supervivencia de postlarvas

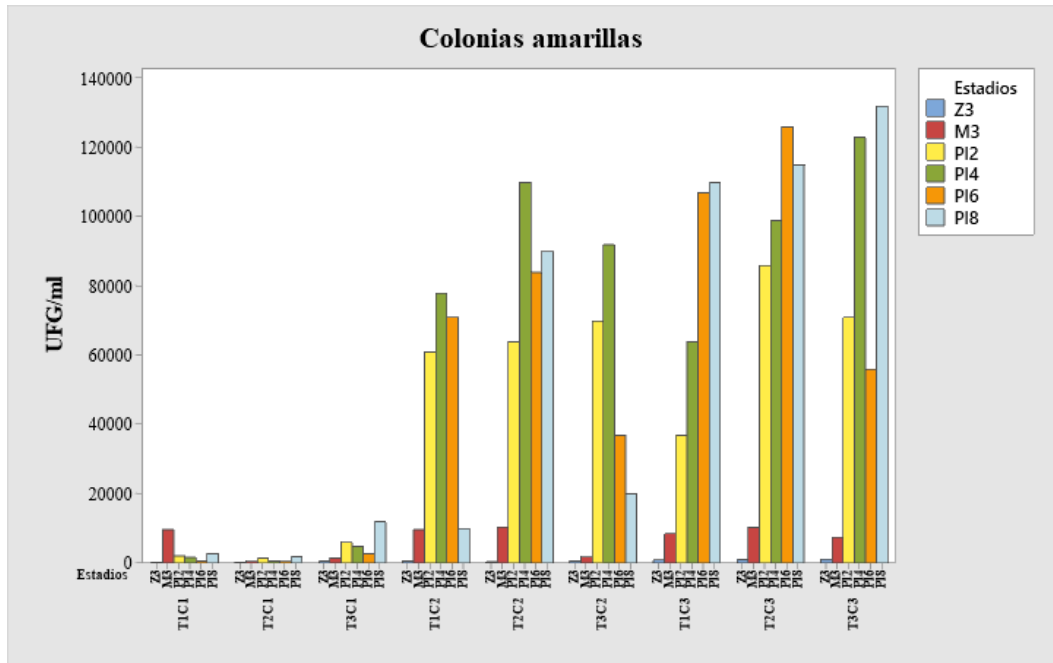
8.3.1 Colonias amarillas

La dinámica de crecimiento bacteriano de colonias amarillas de cada tratamiento se muestra en la Figura 19, donde se observa un notable aumento entre los estadíos M3 y P12, seguido de una leve disminución entre P14 y P18.

Según los resultados de la prueba Tukey existen diferencias significativas entre los tratamientos en relación a colonias amarillas, especialmente en T2C3 (Anexo 3). De acuerdo a los resultados del análisis por el método Dunnett (Anexo 4), las medias de la carga bacteriana obtenida en la mayoría de los tratamientos no muestran diferencias significativas en comparación con los rangos normales para las colonias amarillas ($1.00E+02$), a excepción de los tratamientos T2C3, T3C3 y T2C2.

Figura 19

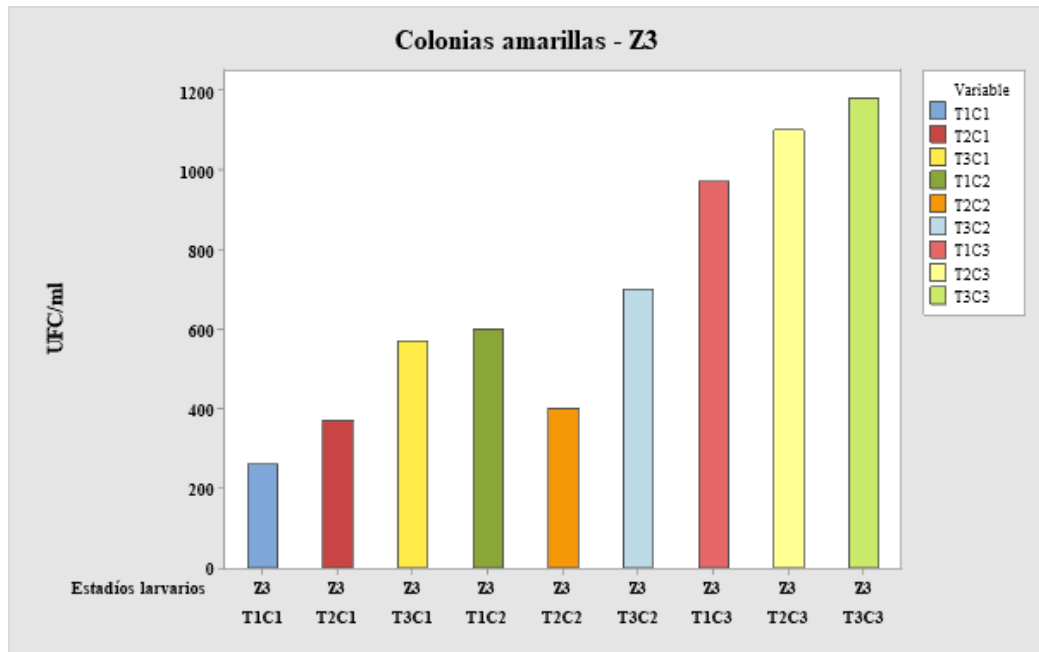
Dinámica de crecimiento de colonias amarillas por tratamiento y ciclo de producción



En la Figura 20 se observa el crecimiento de colonias amarillas en Zoea 3 en cada tratamiento, es posible observar la carga más alta en T3C3 y la más baja en T1C1.

Figura 20

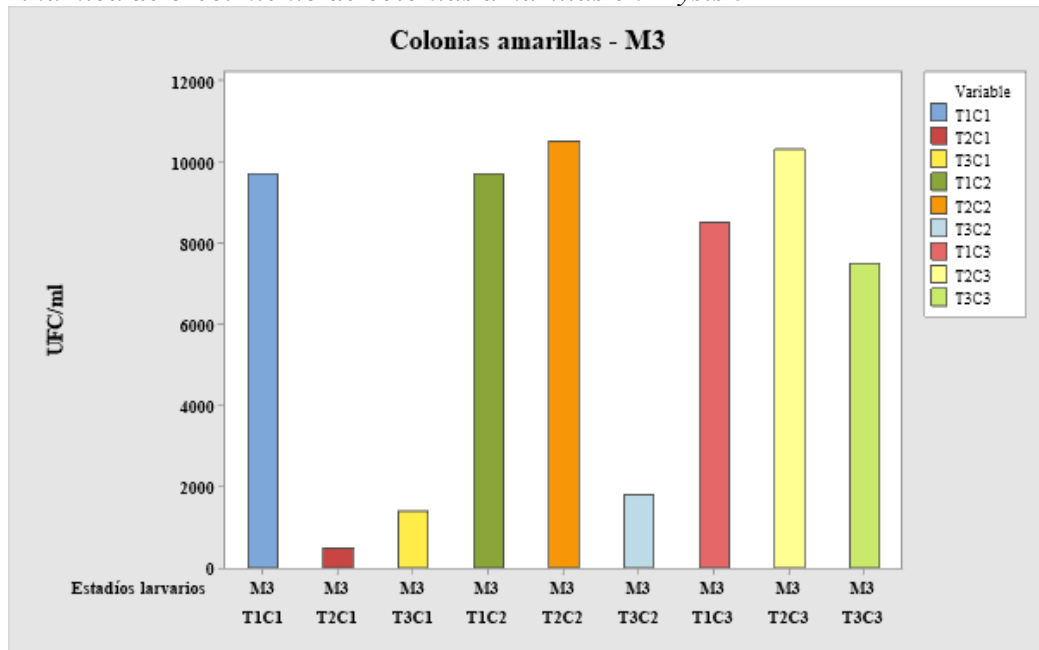
Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Zoea 3



En la Figura 21 se observa el crecimiento bacteriano en Mysis 3, en donde se presentó la carga más alta en T2C2 y T2C3 y la más baja en T2C1 y T3C1.

Figura 21

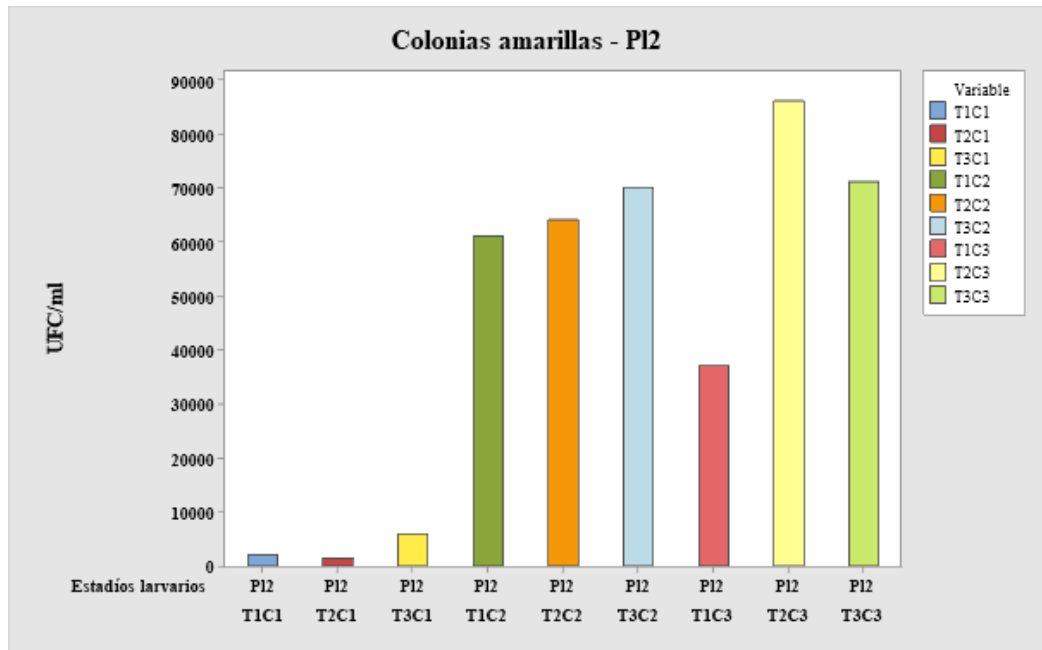
Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Mysis 3



En la Figura 22 se presentan las cargas bacterianas en P12, las más altas registradas en T2C3 y las más bajas en los tratamientos del primer ciclo.

Figura 22

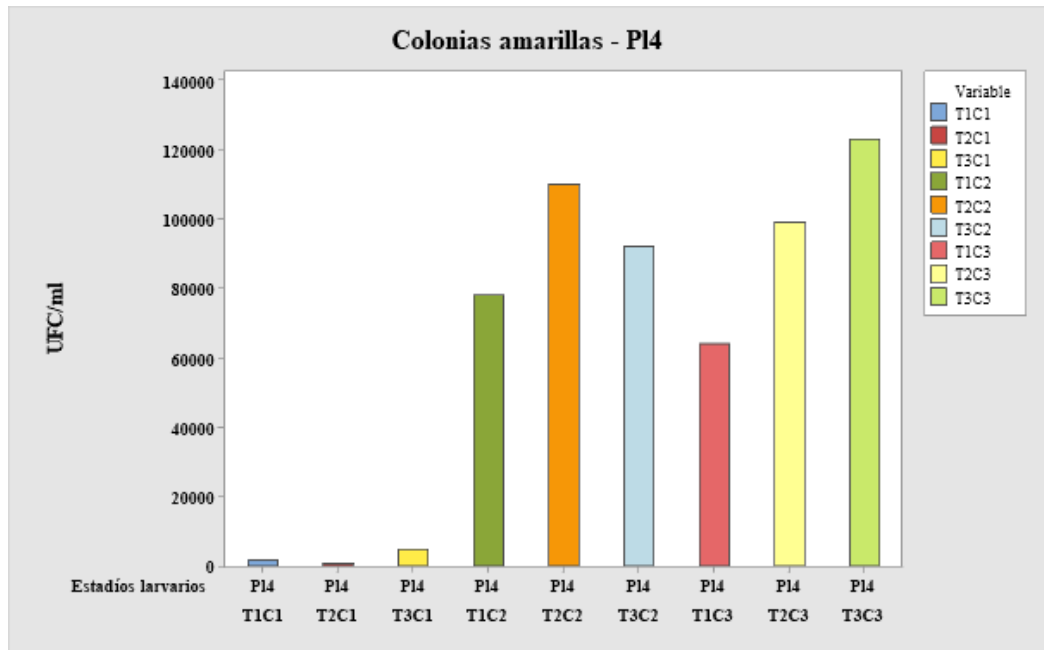
Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Postlarva 2



En la Figura 23 se muestran las cargas más altas en T2C2 y T3C3, mientras que las menores en los tratamientos del primer ciclo.

Figura 23

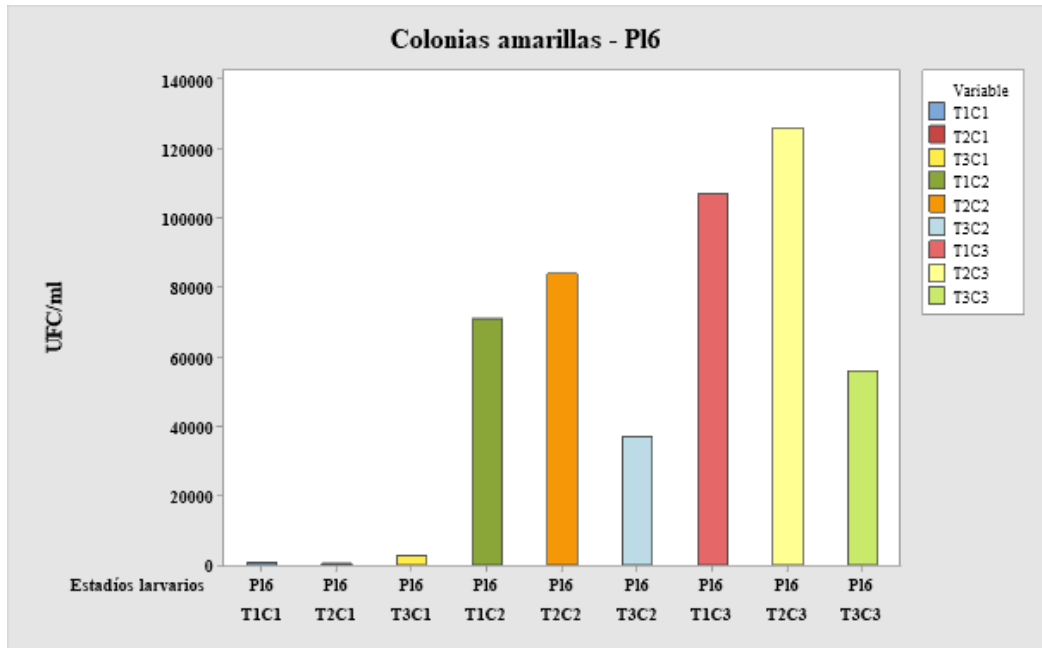
Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Postlarva 4



En la Figura 24, la carga más alta se presentó en T2C3 y las más bajas en los tratamientos del primer ciclo.

Figura 24

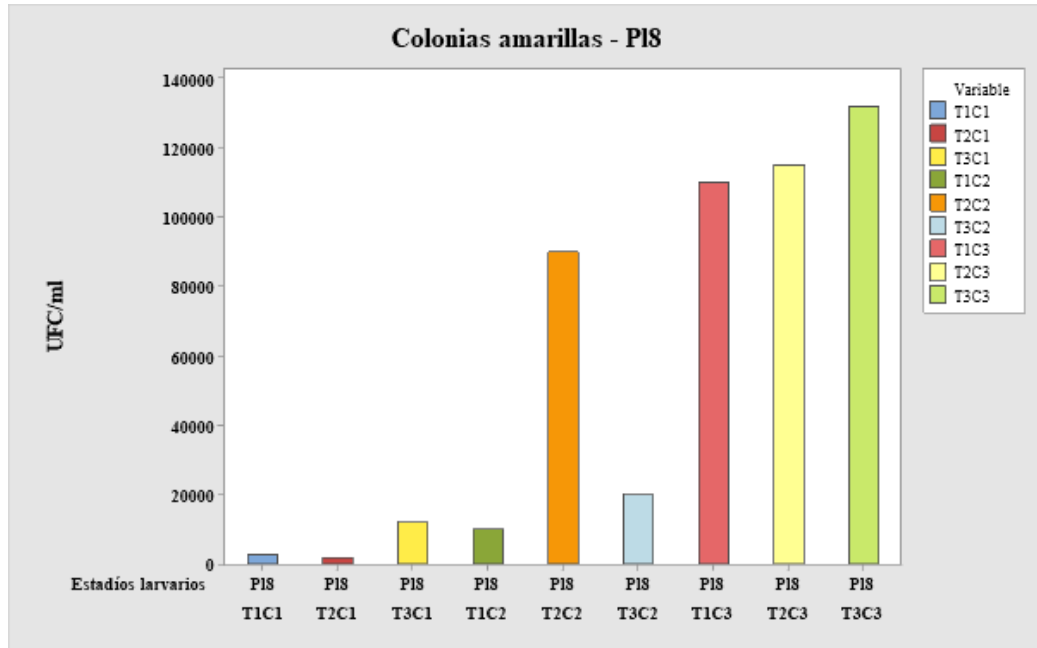
Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Postlarva 6



Finalmente, en la Figura 25, se observan las cargas más altas en los tratamientos del tercer ciclo y las más bajas en T1C1 y T2C1.

Figura 25

Dinámica de crecimiento de colonias amarillas en Postlarva 8



8.3.2 Colonias verdes

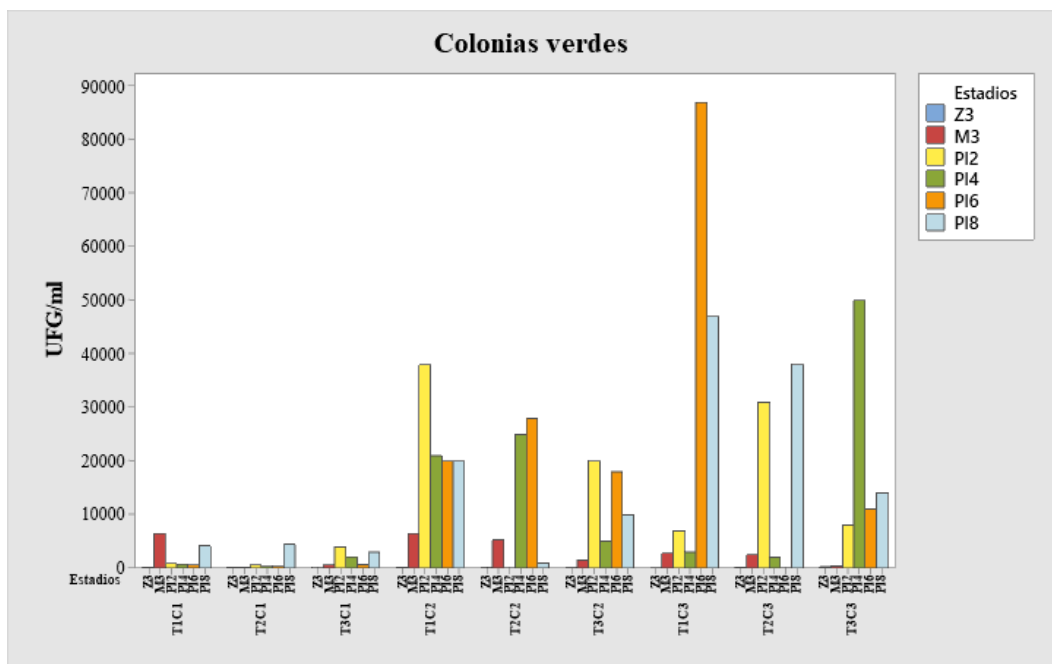
En la Figura 26 se observa el crecimiento de las colonias verdes, donde se aprecia un aumento considerable en T1C3, sin embargo, en los demás tanques se presentó una disminución leve entre P12 y P18.

De acuerdo al análisis por el método Tukey no existen diferencias significativas entre los tratamientos en relación a las colonias verdes (Anexo 6). Según los resultados del análisis por el método Dunnett (Anexo 7), las medias de la carga bacteriana obtenidas en todos los tratamientos no muestran diferencias

significativas en comparación con los rangos normales para las colonias verdes (1.00E+02).

Figura 26

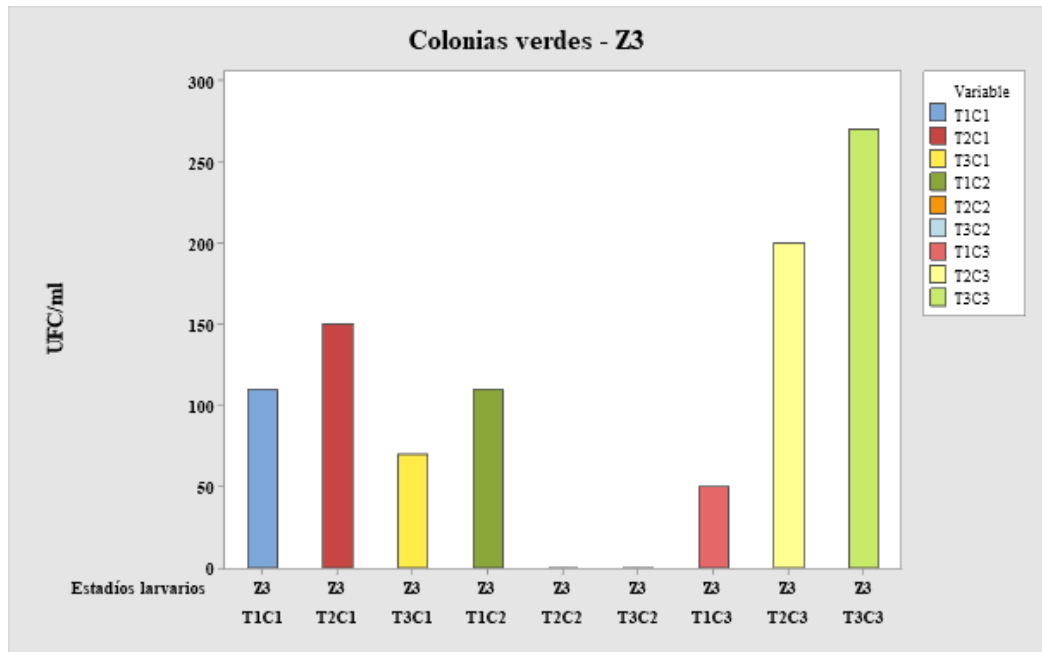
Dinámica de crecimiento de colonias verdes por tratamiento y ciclo de producción



En la Figura 27, se presentan las cargas de colonias verdes registradas en Zoea 3, la más alta se presentó en T3C3 y las más bajas en T2C2 y T3C2.

Figura 27

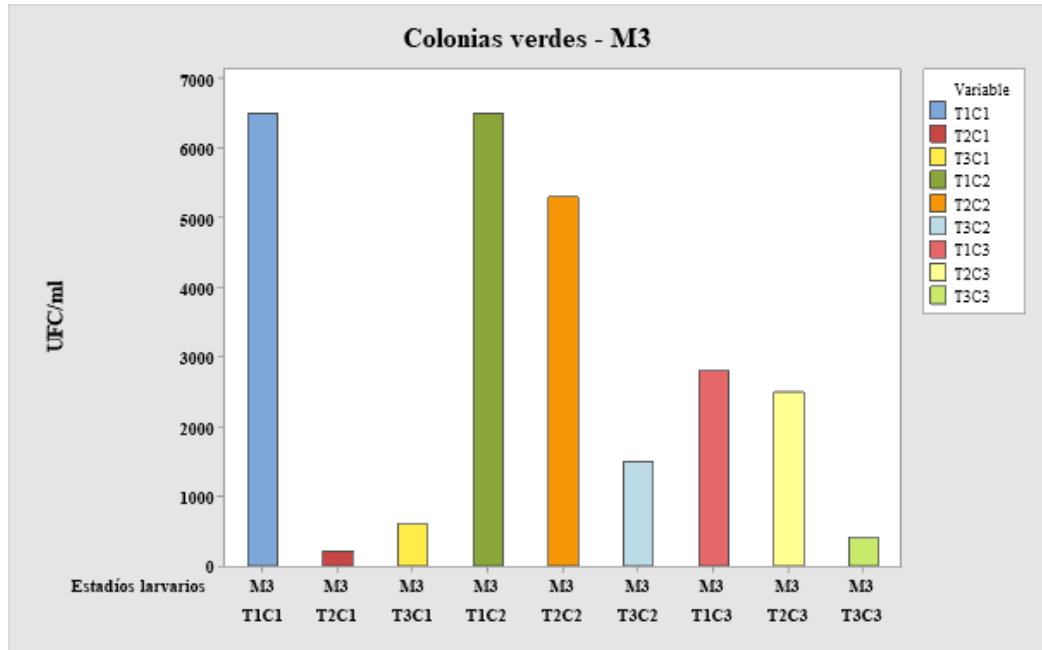
Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Zoea 3



En la Figura 28, se observa las cargas más altas en T1C1 y T1C2, mientras que, las más bajas en T2C1, T3C1 y T3C3.

Figura 28

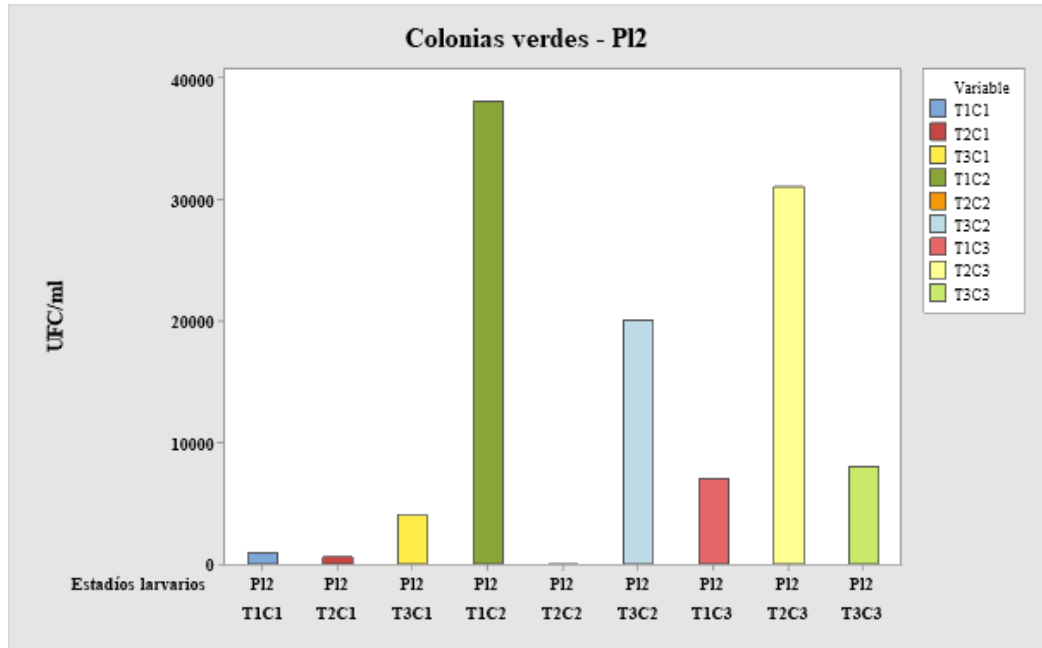
Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Mysis 3



En la Figura 29, se registró la carga más alta en T1C2, las más bajas en los tratamientos del primer ciclo y T2C2.

Figura 29

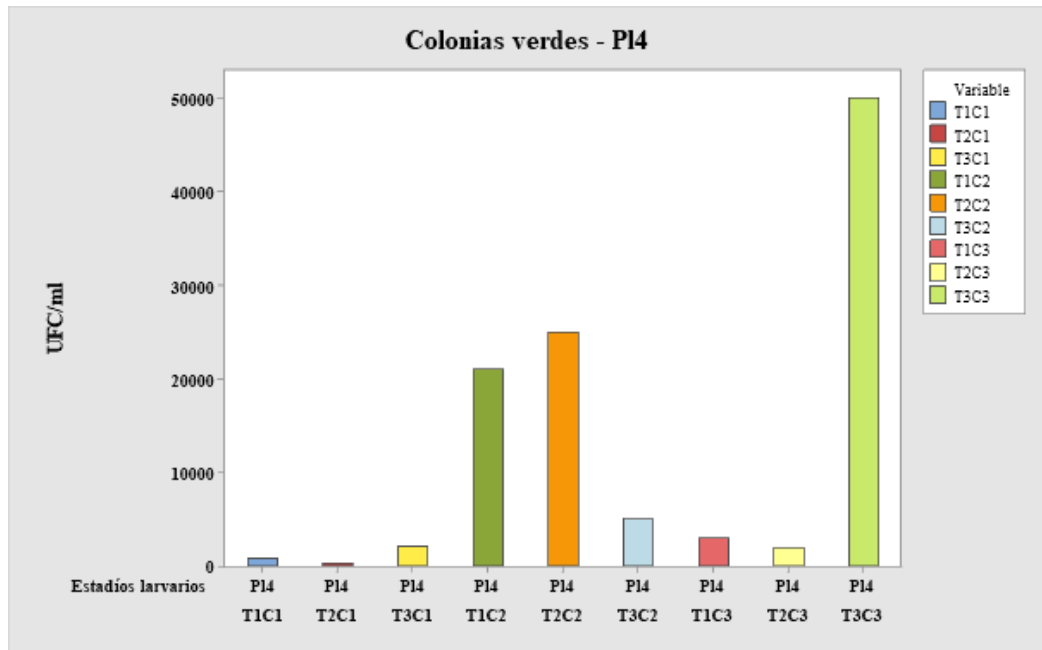
Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Postlarva 2



En la Figura 30, se presentan cargas bajas, a excepción de T1C2, T2C2 y T3C3.

Figura 30

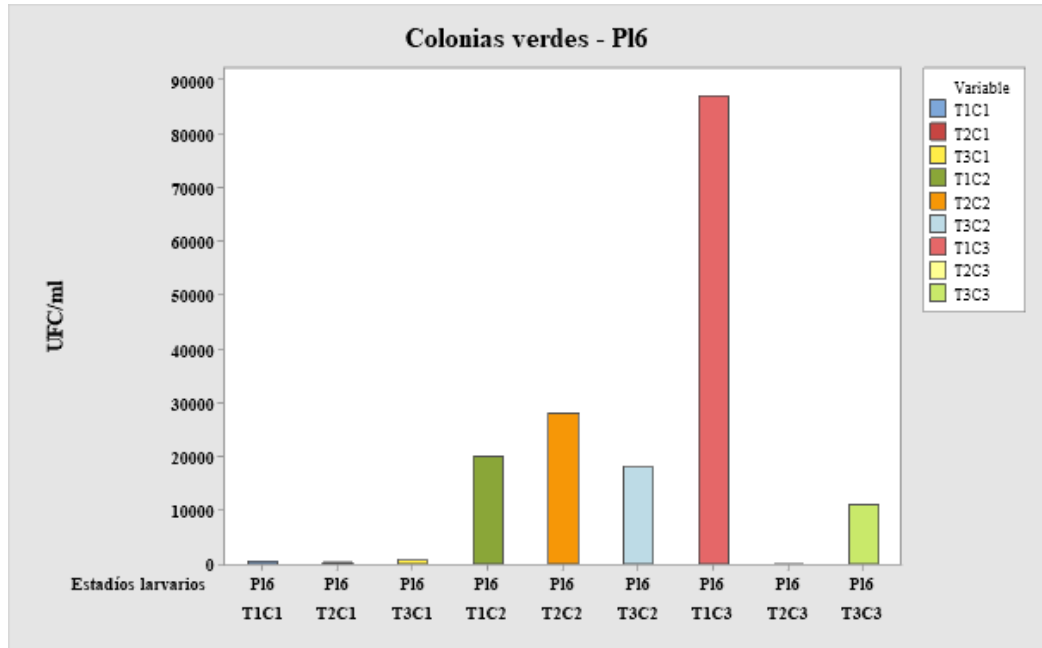
Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Postlarva 4



En la Figura 31, se registró la carga más alta en T1C3, los demás tratamientos presentaron cargas bajas.

Figura 31

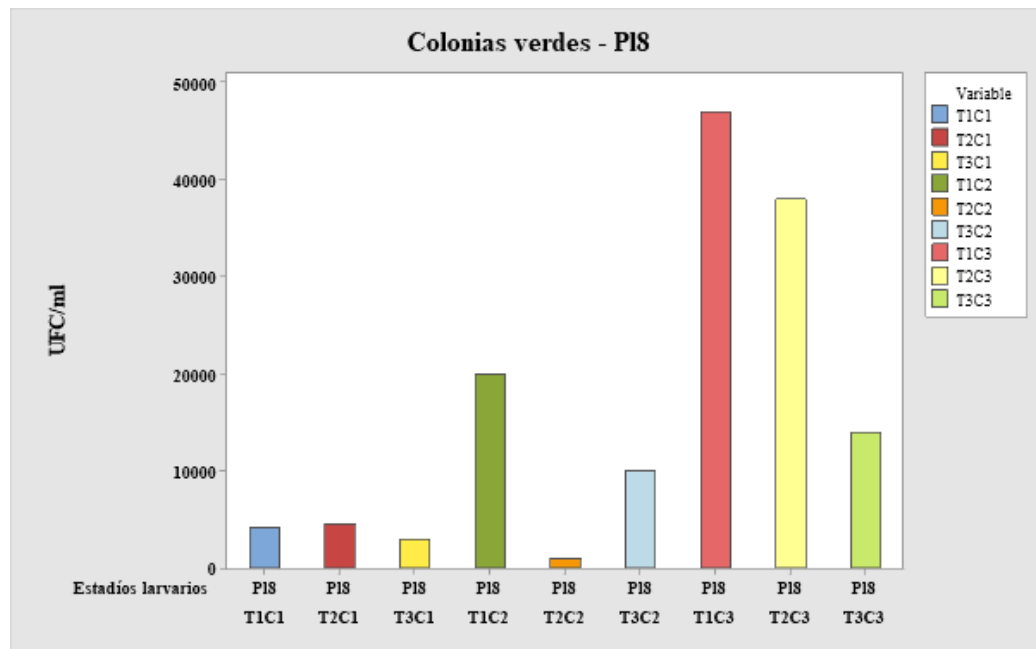
Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Postlarva 6



En la Figura 32, la carga más alta se presentó en T1C3 y T2C3, mientras que las menores en T3C1 y T2C2.

Figura 32

Dinámica de crecimiento de colonias verdes en Postlarva 8



8.3.3 *V. alginolyticus*

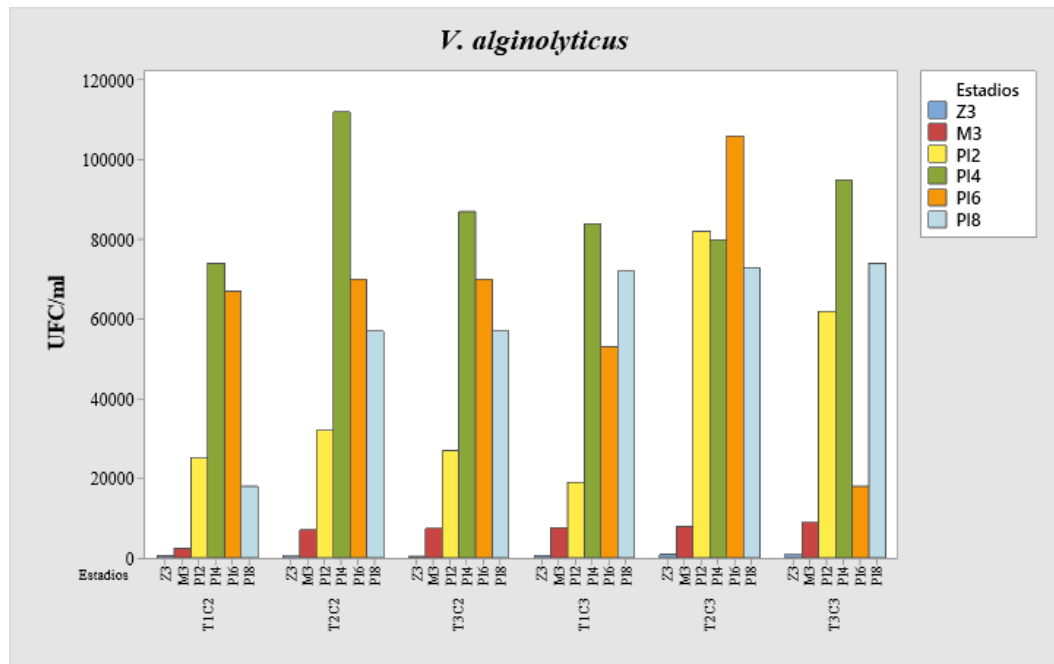
En el caso de *V. alginolyticus* (Figura 33) se registró una disminución del crecimiento entre P14 y P18.

De acuerdo al análisis realizado con el método Tukey no existen diferencias significativas entre los tratamientos en relación a la carga bacteriana de *V. alginolyticus* (Anexo 9). Según los resultados del análisis por el método Dunnett de los rangos normales para las colonias de *V. alginolyticus* (Anexo 10), las medias de la carga bacteriana obtenidas en los tratamientos no muestran diferencias

significativas en comparación a los rangos normales ($1.00E+02$), a excepción de T2C3.

Figura 33

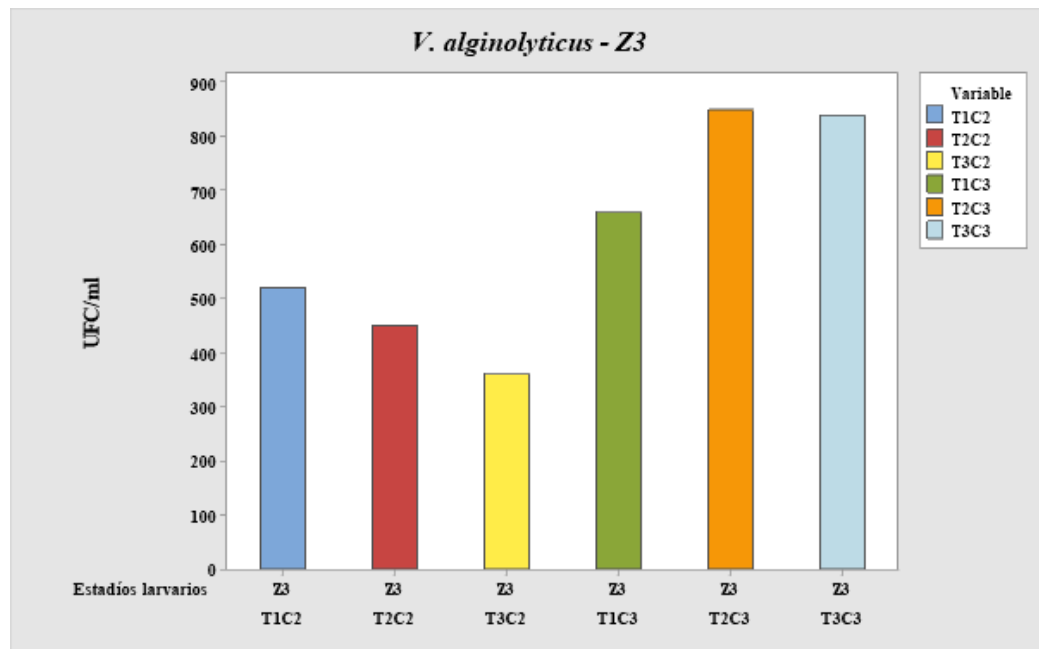
Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus por tratamiento y ciclo de producción



En la Figura 34, se presentaron las cargas más altas en los tratamientos del tercer ciclo y la más baja en T3C2.

Figura 34

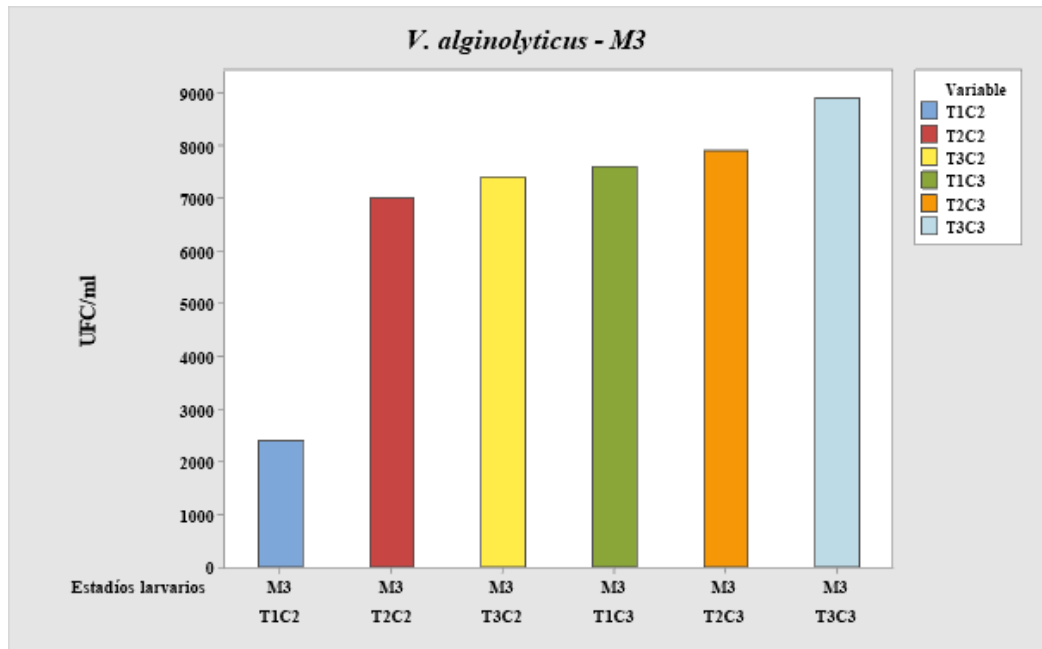
Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Zoea 3



En la Figura 35, se observa la carga más alta en T2C3 y T3C3, la menor en T1C2.

Figura 35

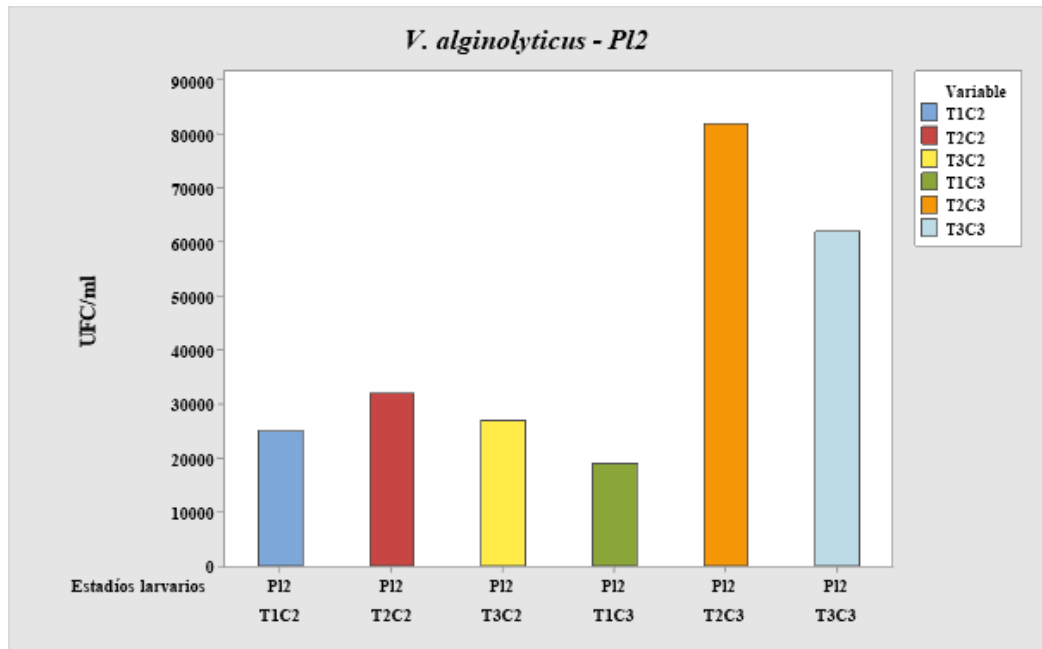
Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Mysis 3



En la Figura 36, se presentó la carga más alta en T2C3 y T3C3, mientras que la más baja en T1C3.

Figura 36

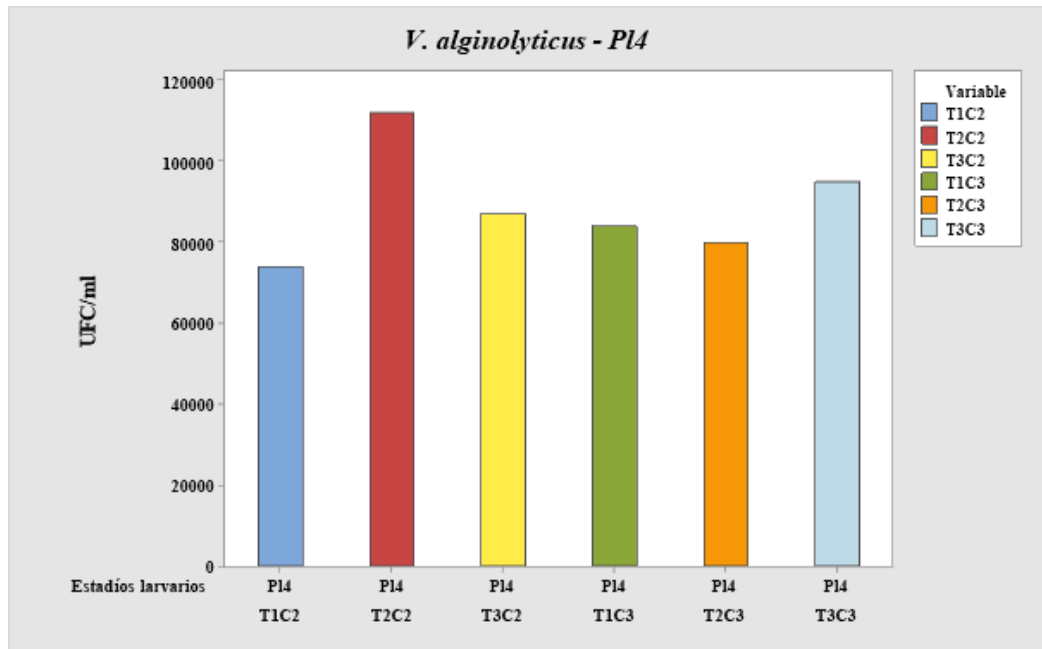
Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Postlarva 2



En la Figura 37, se registró la carga más alta en T2C2 y T3C3.

Figura 37

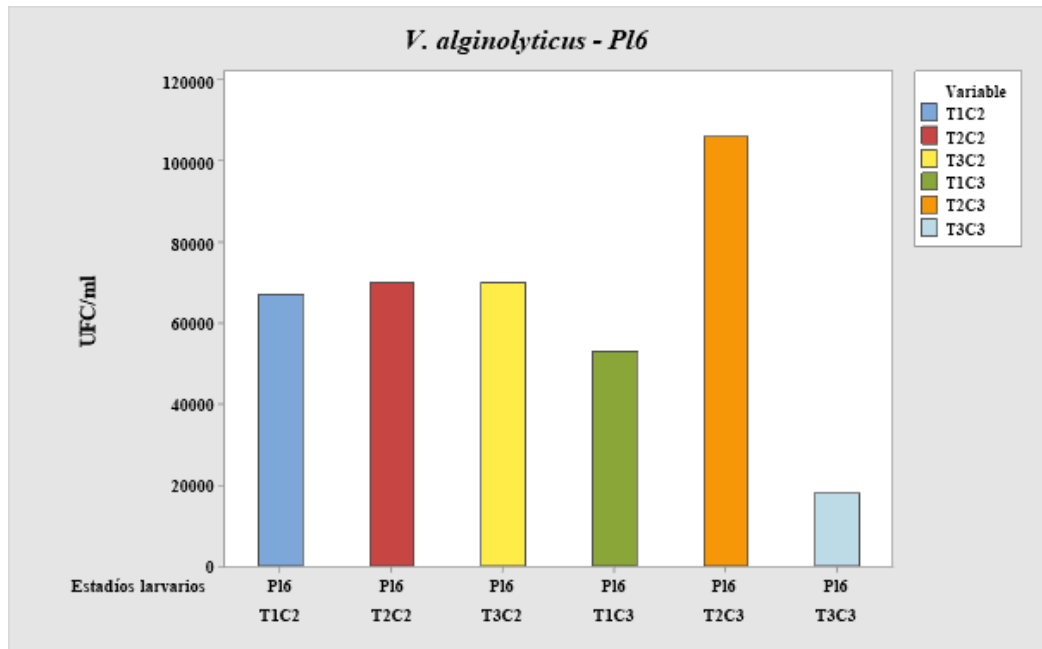
Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Postlarva 4



En la Figura 38, se observa la carga más alta en T2C3 y la más baja en T3C3.

Figura 38

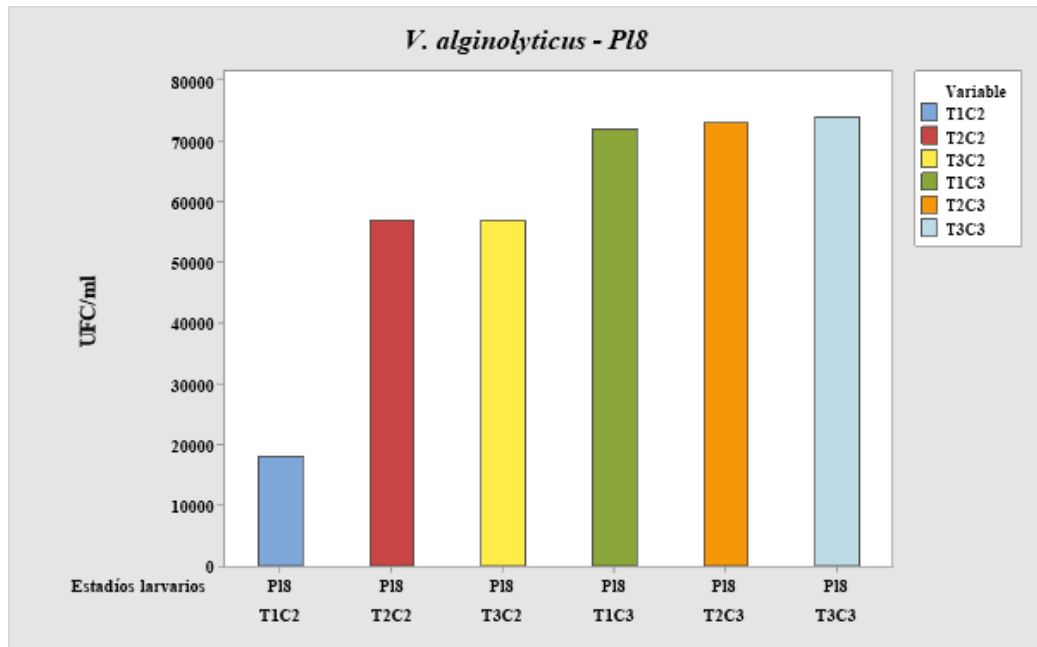
Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Postlarva 6



En la Figura 39, se presentó la carga más alta en los tratamientos del tercer ciclo y la más baja en T1C2.

Figura 39

Dinámica de crecimiento de V. alginolyticus en Postlarva 8



8.3.4 *V. vulnificus*

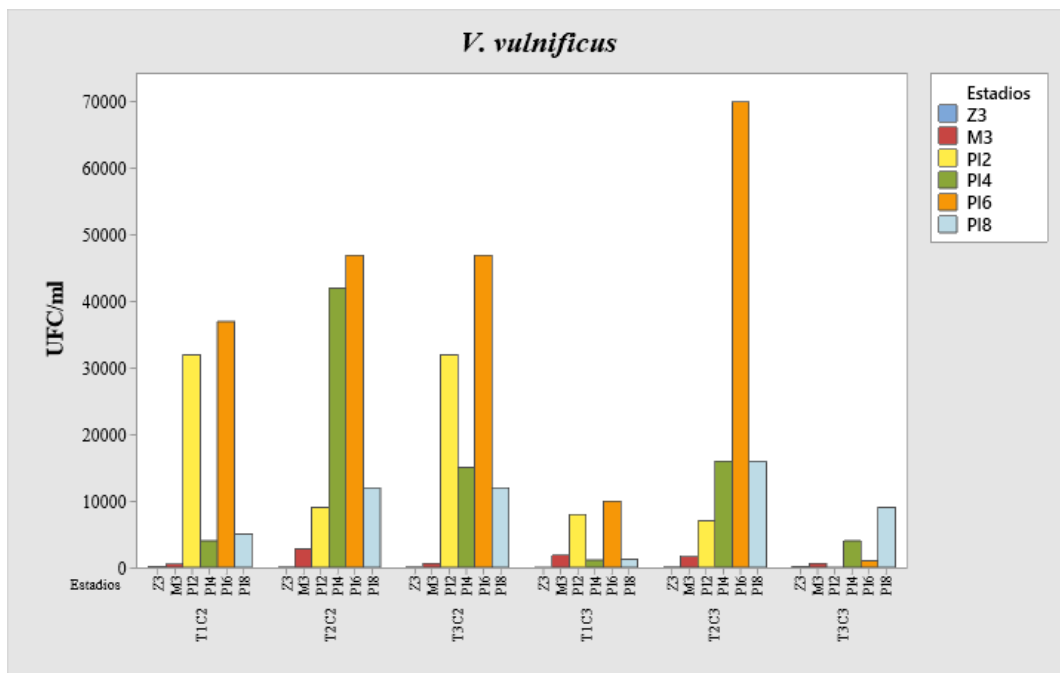
En la Figura 40 se muestra el crecimiento de *V. vulnificus*, donde se registraron las cargas más bajas en T1C3 y T3C3, y se observó una disminución entre Pl6 y Pl8 en los demás tratamientos.

De acuerdo a los resultados de la prueba de Tukey no existen diferencias significativas entre los tratamientos en relación a las cargas bacterianas de *V. vulnificus* (Anexo 12). De acuerdo a los resultados del análisis por el método Dunnett de los rangos normales para las colonias de *V. vulnificus* (Anexo 13), las

medias de las cargas bacterianas obtenidas en todos los tratamientos no muestran diferencias significativas en comparación a los rangos normales ($1.00E+01$).

Figura 40

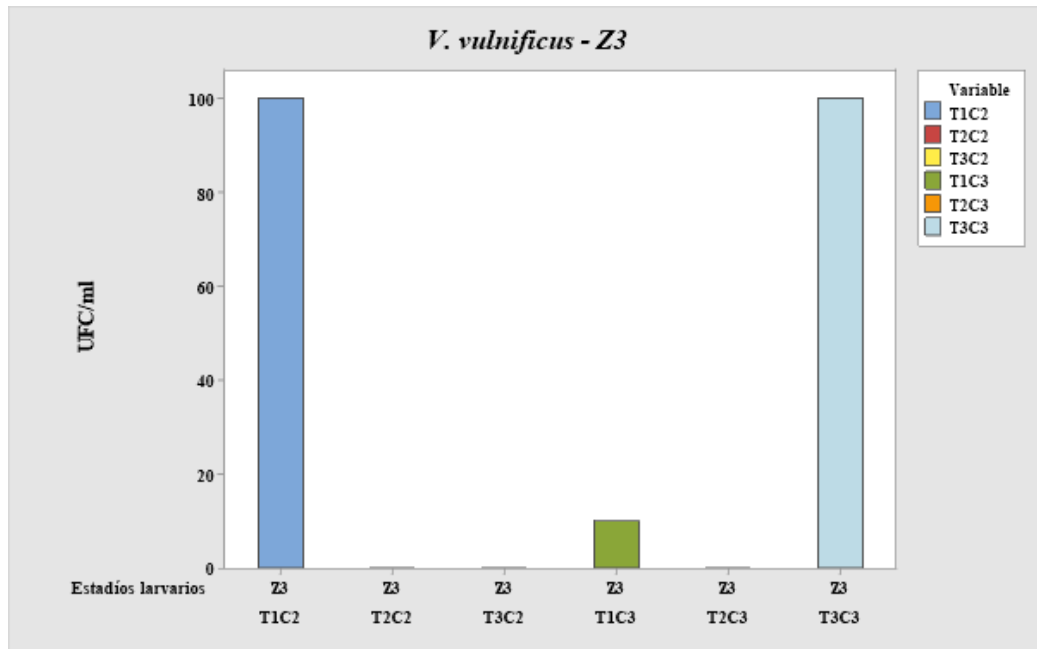
Dinámica de crecimiento de V. vulnificus por tratamiento y ciclo de producción



En la Figura 41, se presentaron las cargas más altas en T1C2 y T3C3, a diferencia de los demás tratamientos que presentaron cargas muy bajas.

Figura 41

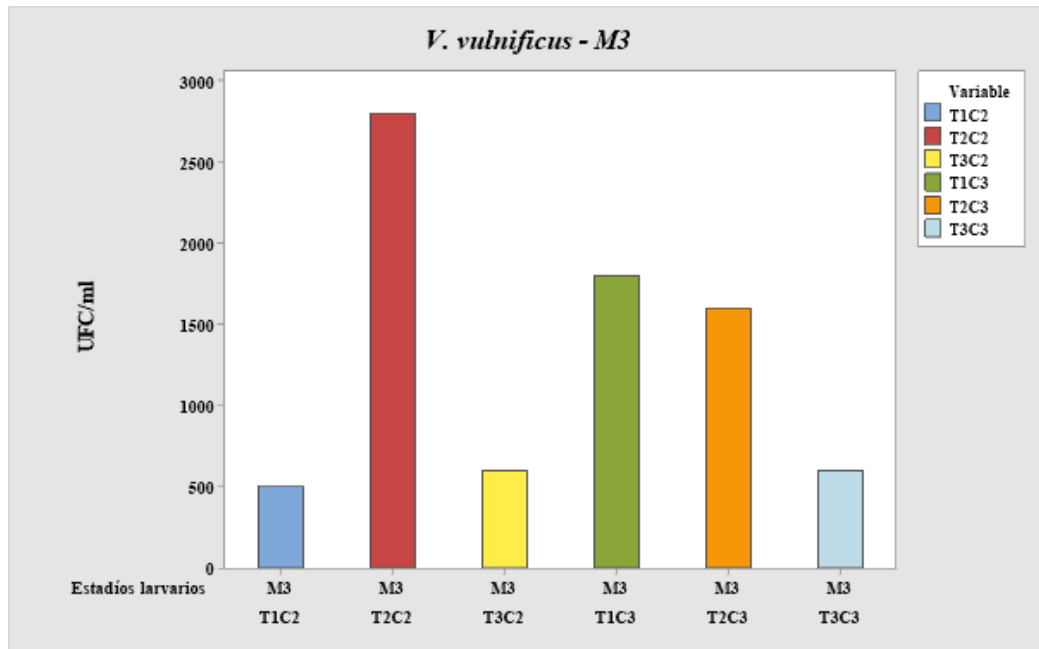
Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Zoea 3



En la Figura 42, se observa la carga más alta en T2C2, las cargas más bajas se presentaron en T1C2, T3C2 y T3C3.

Figura 42

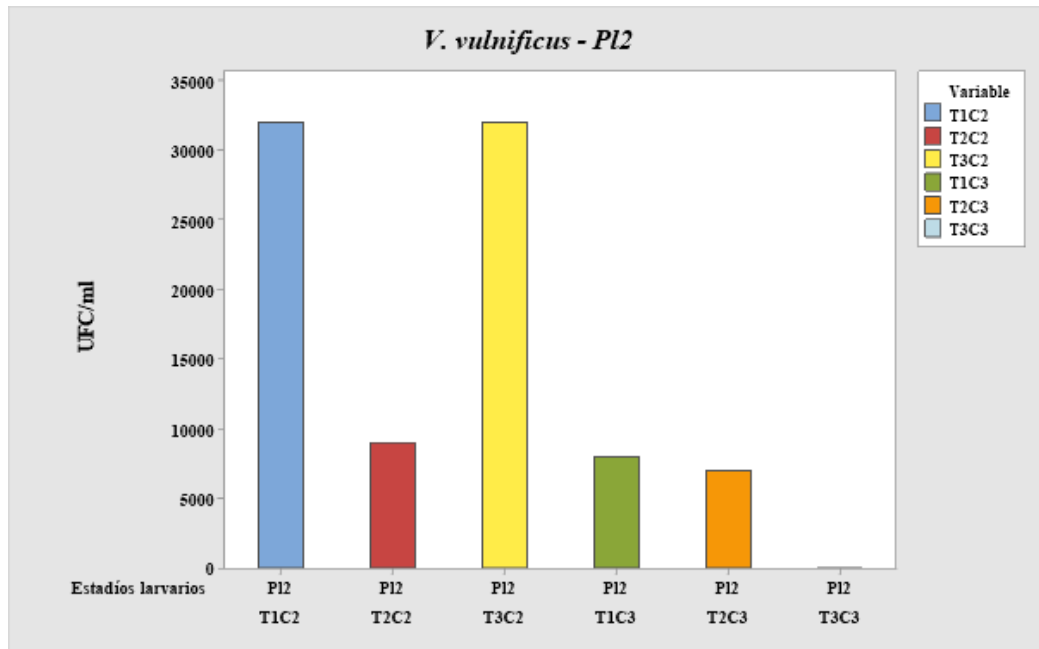
Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Mysis 3



En la Figura 43, se registró las cargas más altas en T1C2 y T3C2, mientras que la más baja se presentó en T3C3.

Figura 43

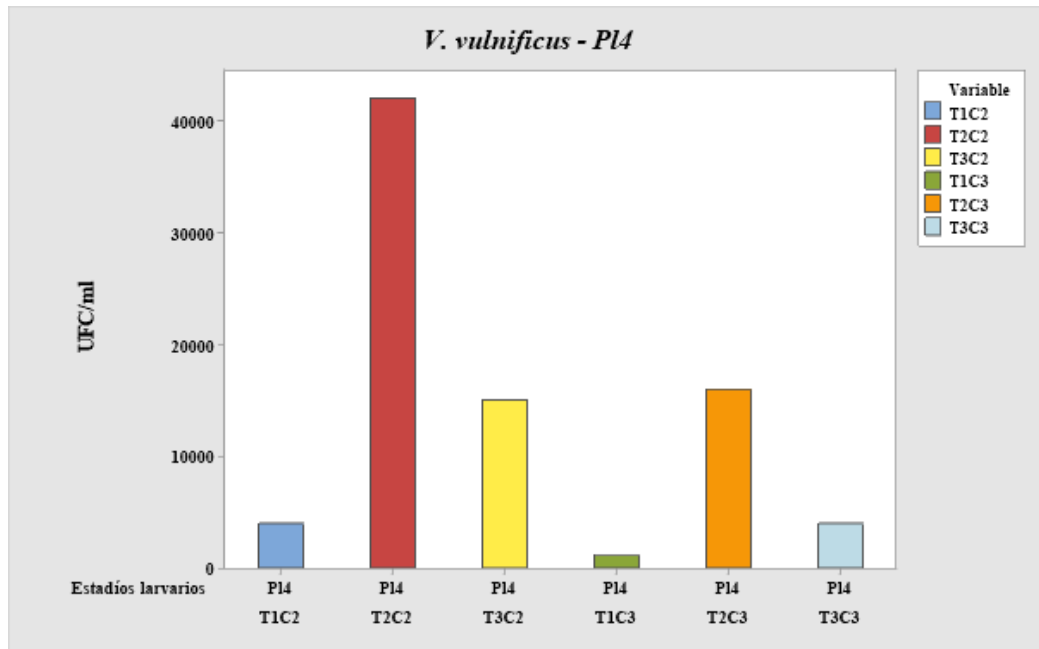
Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Postlarva 2



En la Figura 44, se observa la carga más alta en T2C2 y las más bajas en T1C2, T1C3 y T3C3.

Figura 44

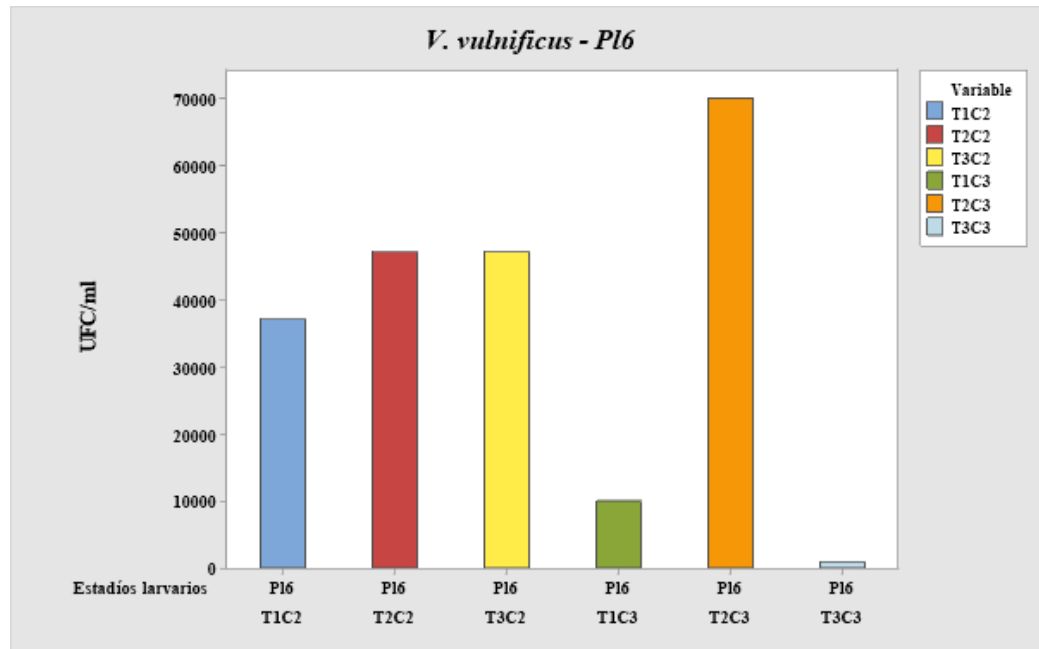
Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Postlarva 4



En la Figura 45, se presentó la carga más alta en T2C3 y la más baja en T3C3.

Figura 45

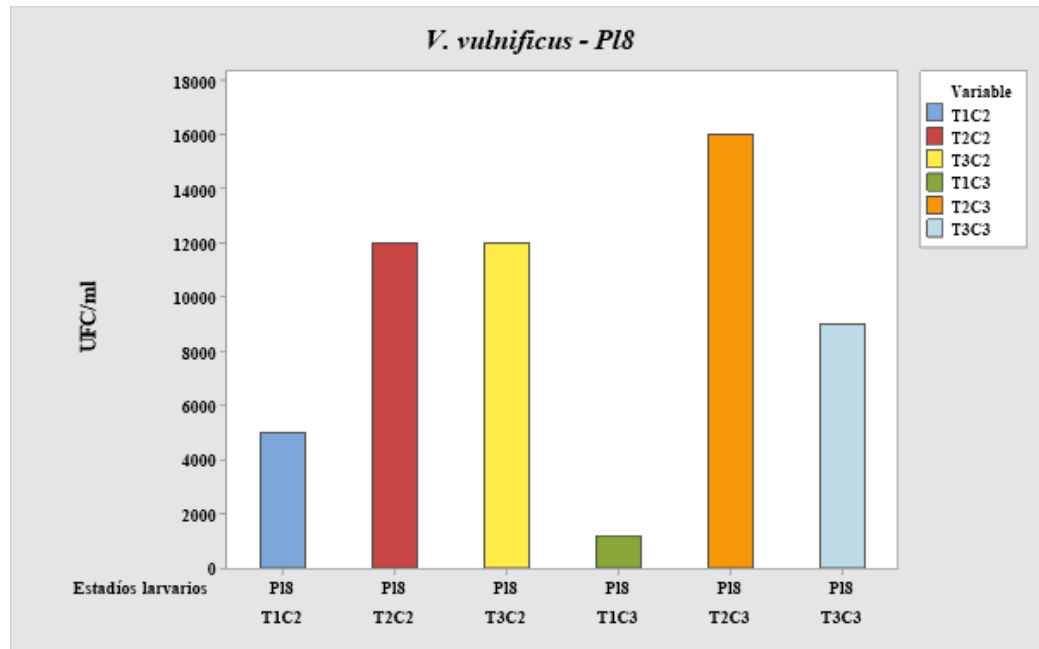
Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Postlarva 6



En la Figura 46, se registró la carga más alta en T2C3 y la más baja en T1C3.

Figura 46

Dinámica de crecimiento de V. vulnificus en Postlarva 8



8.3.5 *V. parahaemolyticus*

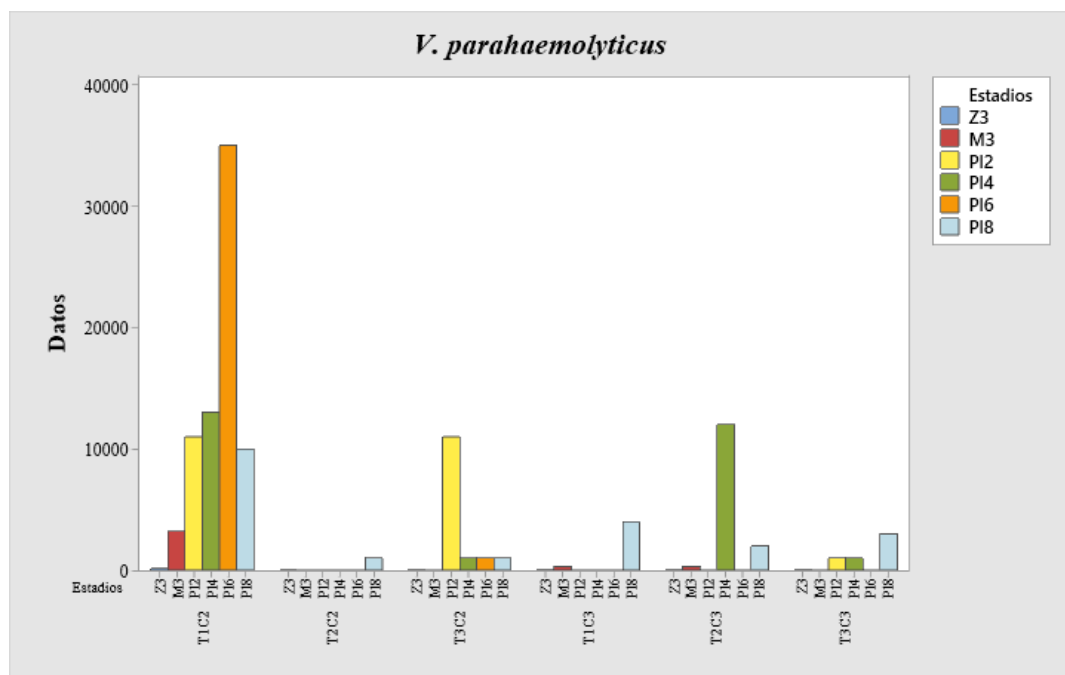
Los resultados del crecimiento de *V. parahaemolyticus* presentes en la Figura 47, muestran cargas bajas en todos los tratamientos, excepto en T1C2, en el que se registró la carga más alta en Pl6.

De acuerdo a los resultados de la Prueba por el método Tukey existen diferencias significativas entre los tratamientos en relación a las cargas bacterianas de *V. parahaemolyticus* (Anexo 15). Según los resultados del análisis por el método Dunnett de los rangos normales para las colonias de *V. parahaemolyticus* (Anexo 16), las medias de las cargas bacterianas obtenidas en los tratamientos no muestran

diferencias significativas en comparación con los rangos normales ($1.00E+01$), a excepción de T1C2.

Figura 47

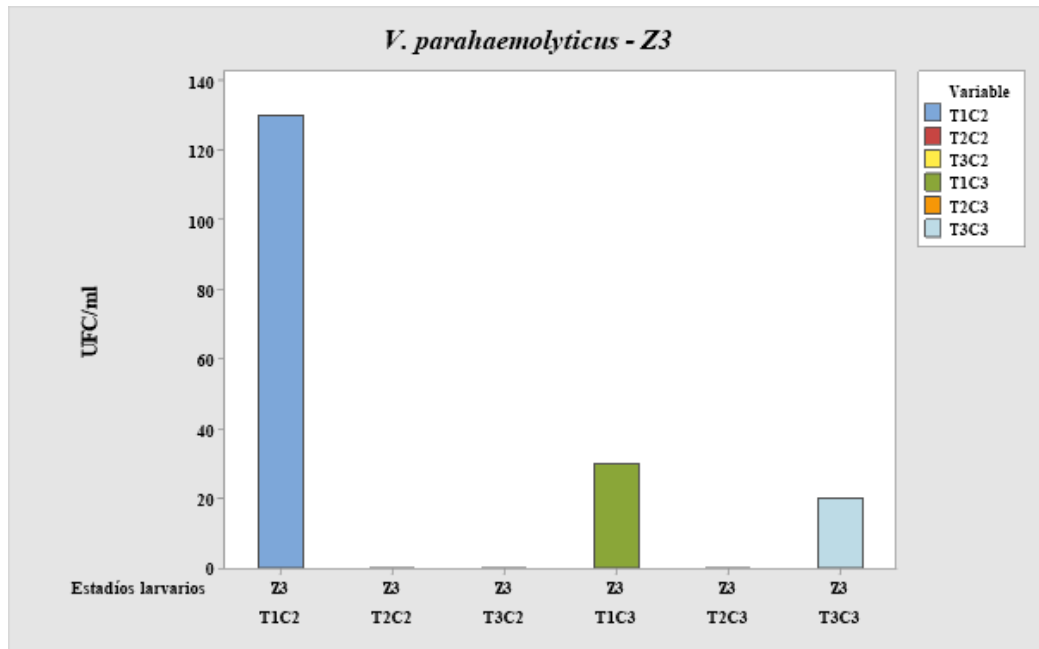
Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus por tratamiento y ciclo de producción



En la Figura 48, se observa la carga más alta en T1C2, mientras que los demás tratamientos presentaron cargas bajas.

Figura 48

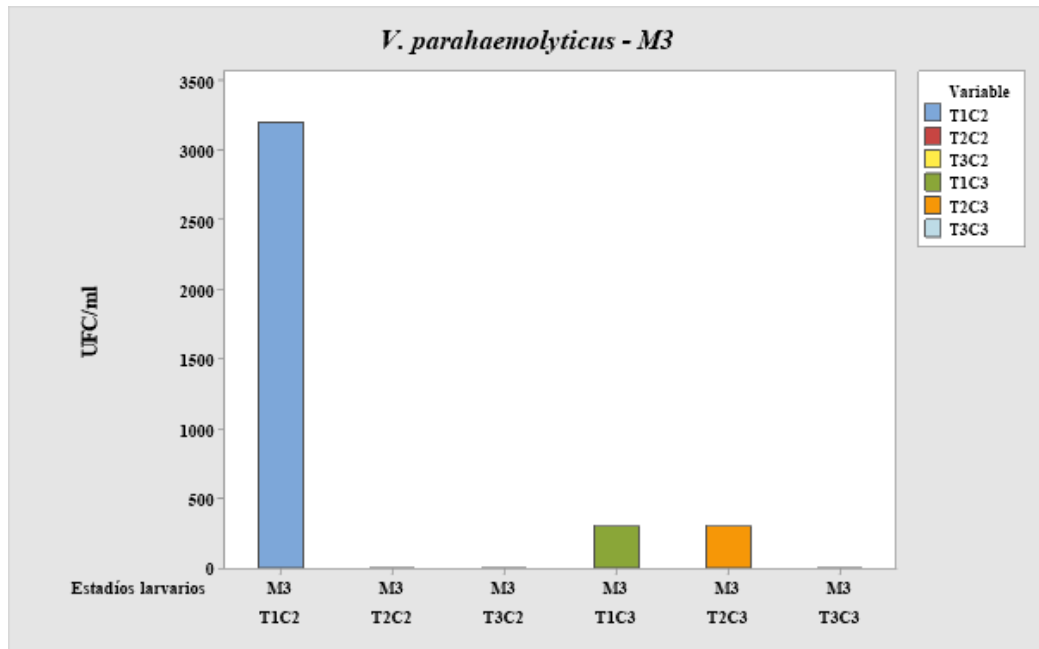
Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Zoea 3



En la Figura 49, se observa la carga más alta en T1C2, en los demás tratamientos se registraron cargas bajas.

Figura 49

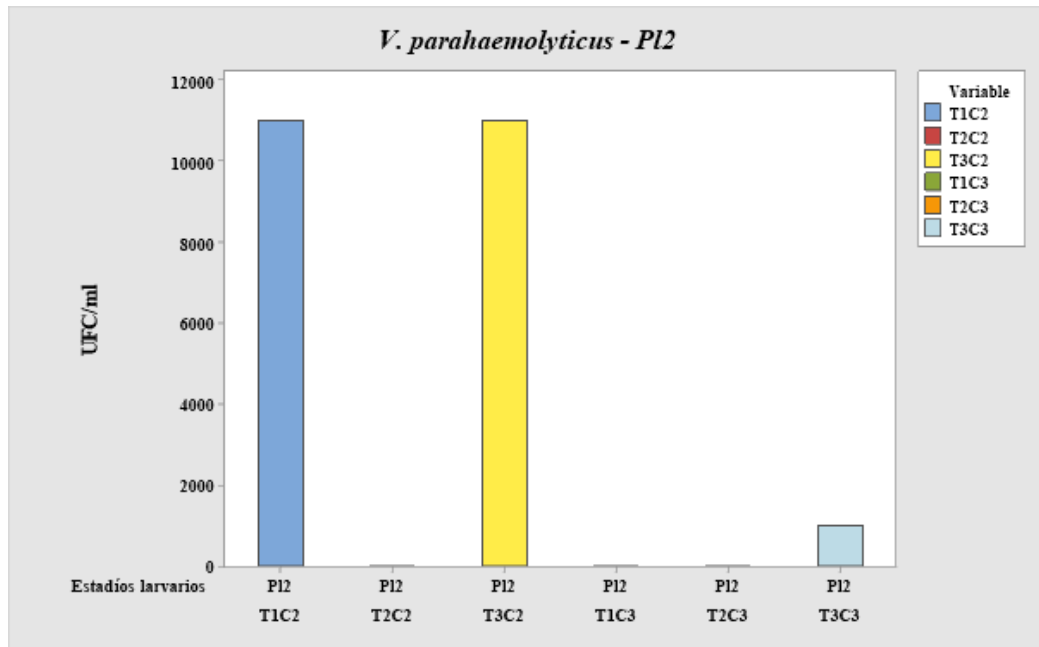
Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Mysis 3



En la Figura 50, se observa la carga más alta en T1C2 y T3C2, los demás tratamientos presentaron cargas bajas.

Figura 50

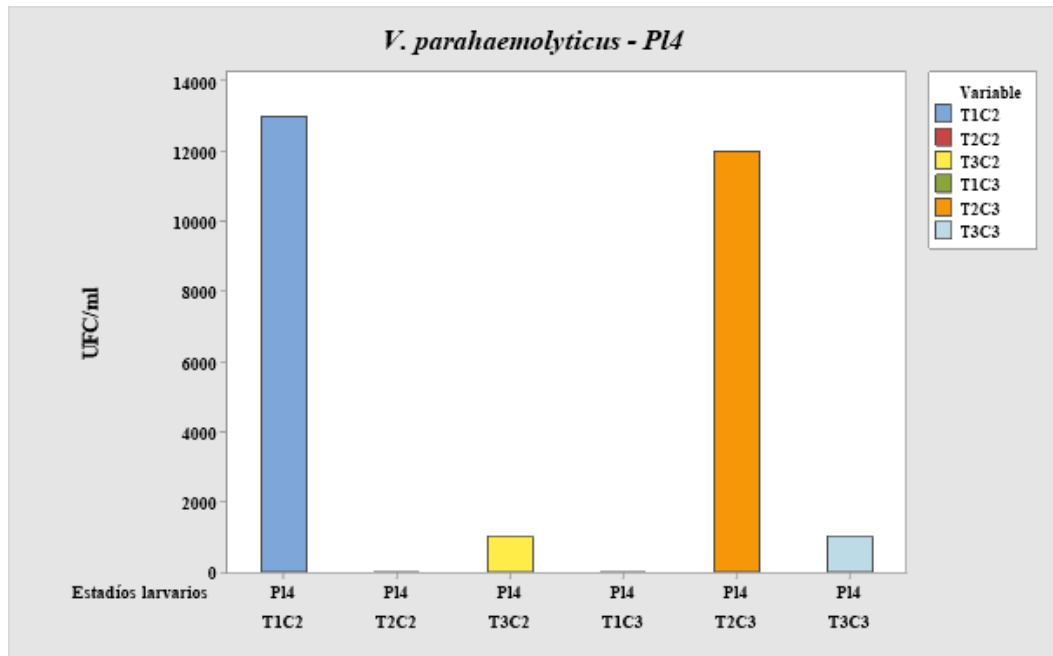
Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Postlarva 2



En la Figura 51, se observa la carga más alta en T1C2 y T2C3, en los demás tratamientos se evidenciaron cargas bajas.

Figura 51

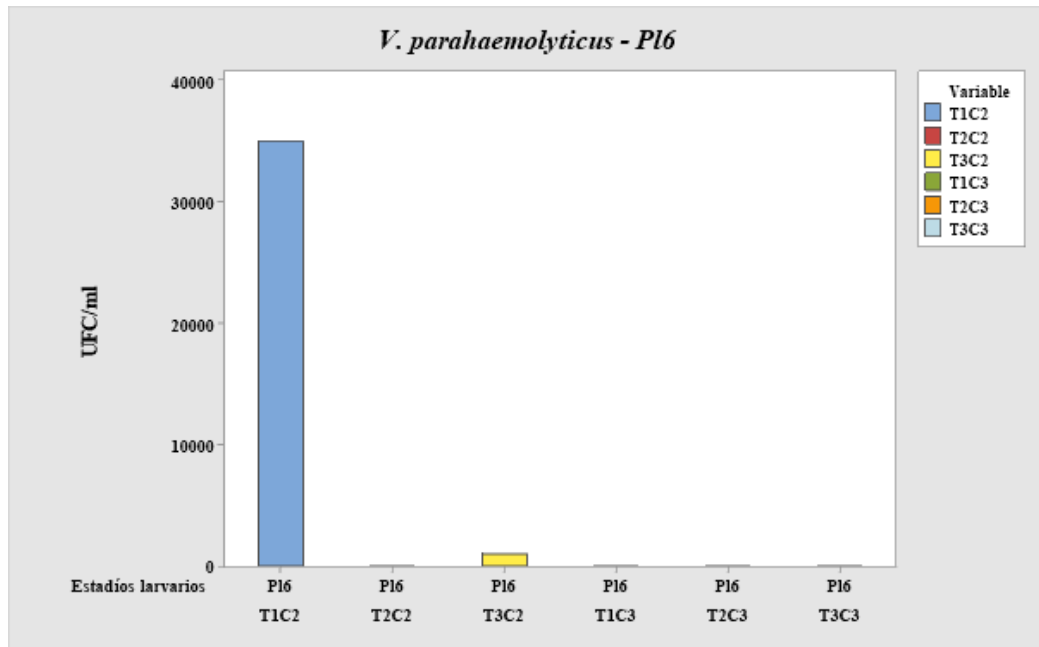
Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Postlarva 4



En la Figura 52, se observan cargas bajas en todos los tratamientos, excepto en T1C2.

Figura 52

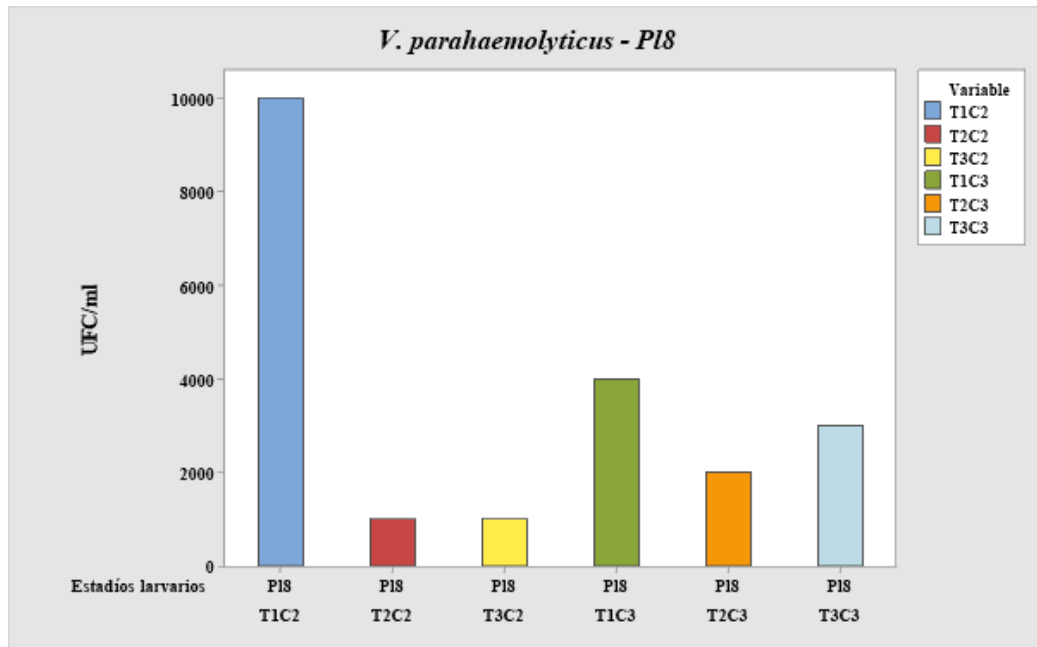
Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Postlarva 6



En la Figura 53, se observa la carga más alta en T1C2, las cargas más bajas se presentaron en T2C2 y T3C2.

Figura 53

Dinámica de crecimiento de V. parahaemolyticus en Postlarva 8



8.3.6 *Pseudomonas*

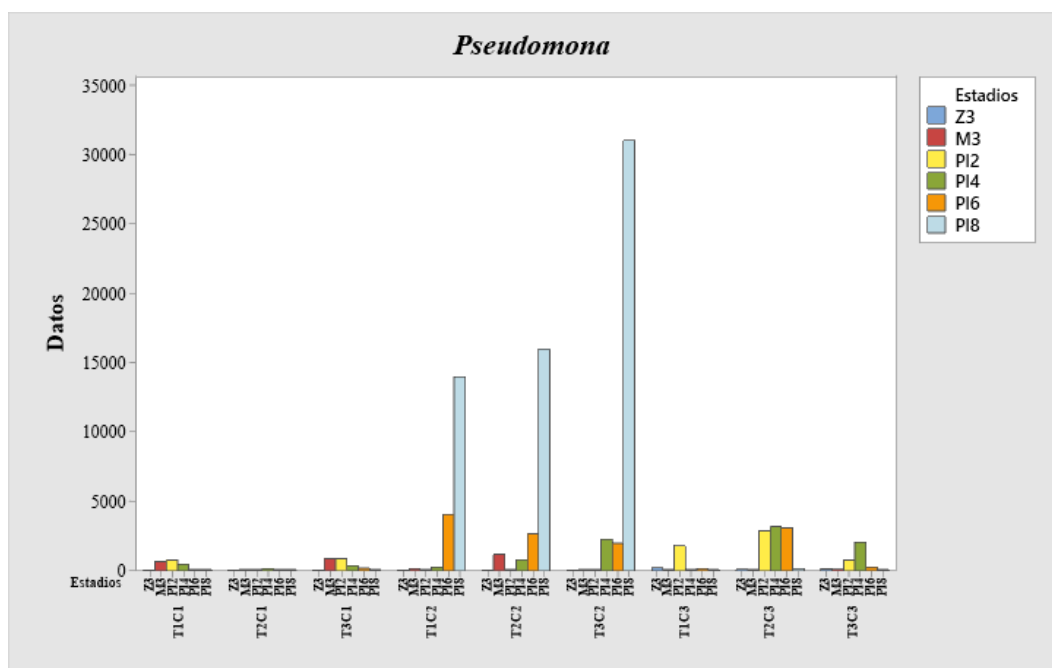
En la Figura 54 se presentan los resultados de *Pseudomonas*, donde se observan las cargas más altas en los tratamientos del segundo ciclo en el estadio P18, mientras que en los demás tanques las cargas se mantuvieron bajas.

De acuerdo a los resultados de la prueba Tukey no existen diferencias significativas entre los tratamientos en relación a las cargas bacterianas de *Pseudomona spp.* (Anexo 18). Los resultados del análisis mediante el método Dunnett de los rangos normales para las colonias de *Pseudomona spp.* (Anexo 19) indican que las medias

de las cargas bacterianas obtenidas en todos los tratamientos no presentan diferencias significativas en comparación con los rangos normales ($1.00E+02$).

Figura 54

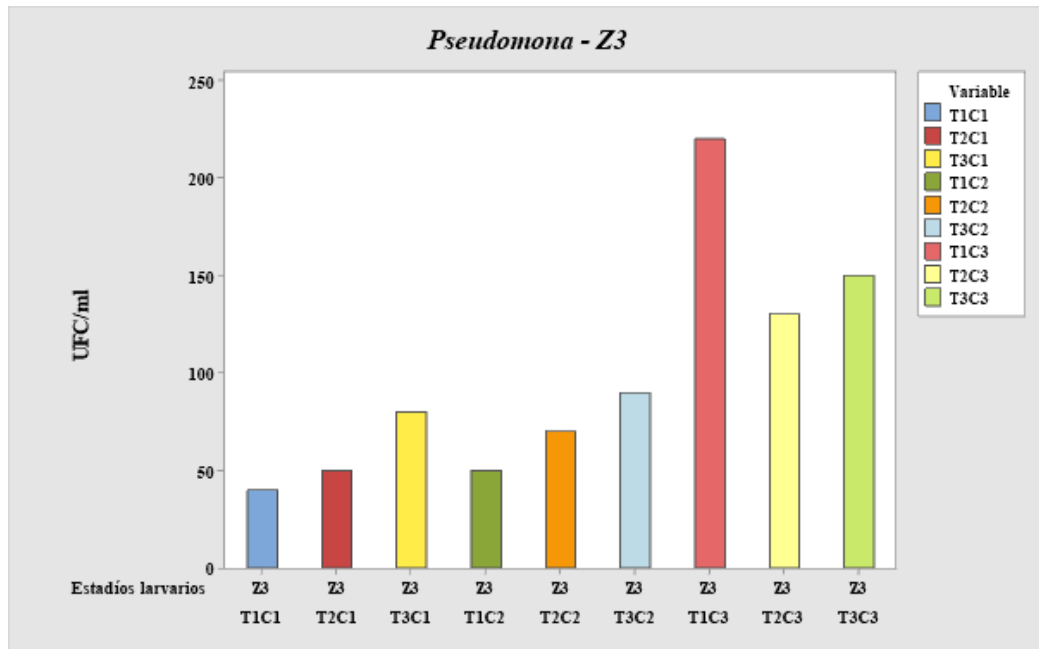
Dinámica de crecimiento de Pseudomona por tratamiento y ciclo de producción



En la Figura 55, se muestran las cargas de *Pseudomona spp.* se registraron cargas bajas en todos los tratamientos.

Figura 55

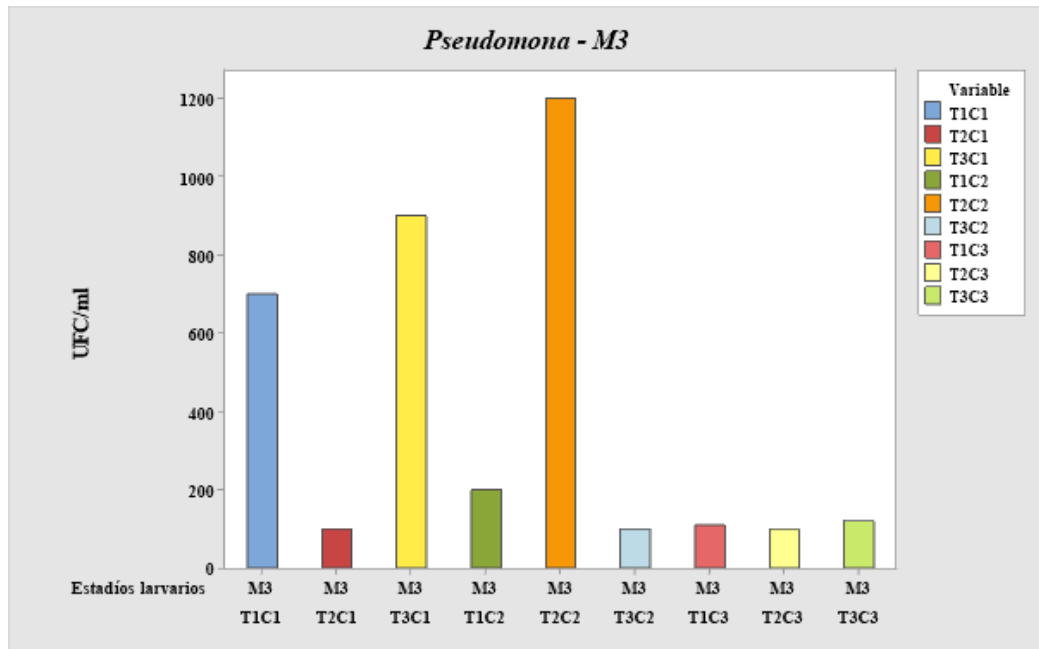
Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Zoea 3



En la Figura 56, se registraron cargas bajas en todos los tratamientos, excepto en T3C1 y T2C2.

Figura 56

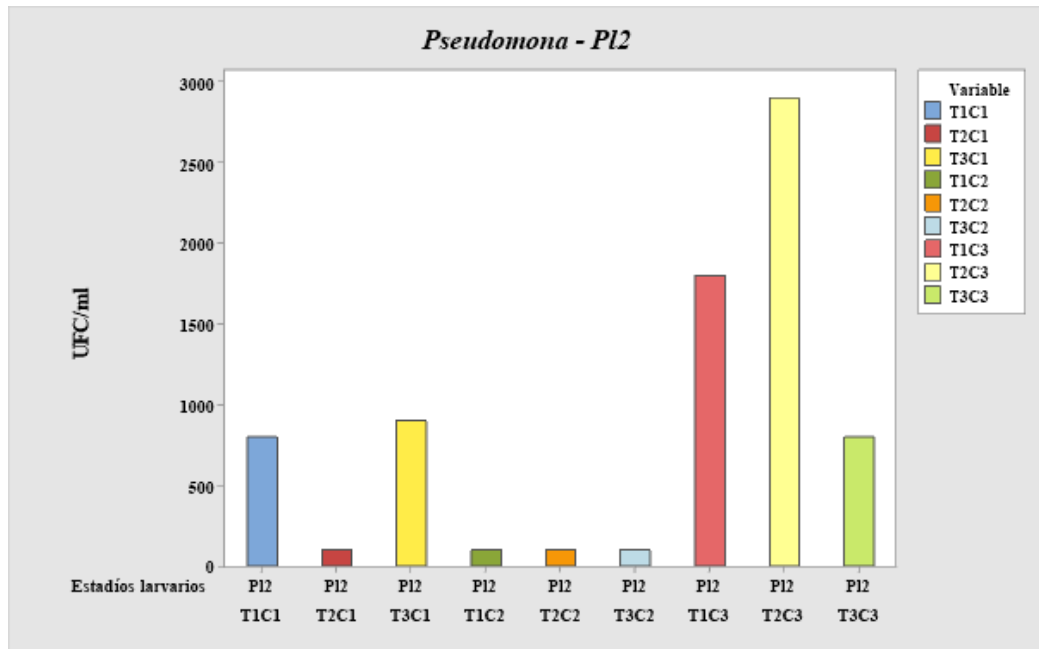
Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Mysis 3



En la Figura 57, se presentan cargas bajas en los tratamientos, excepto en T1C3 y T2C3.

Figura 57

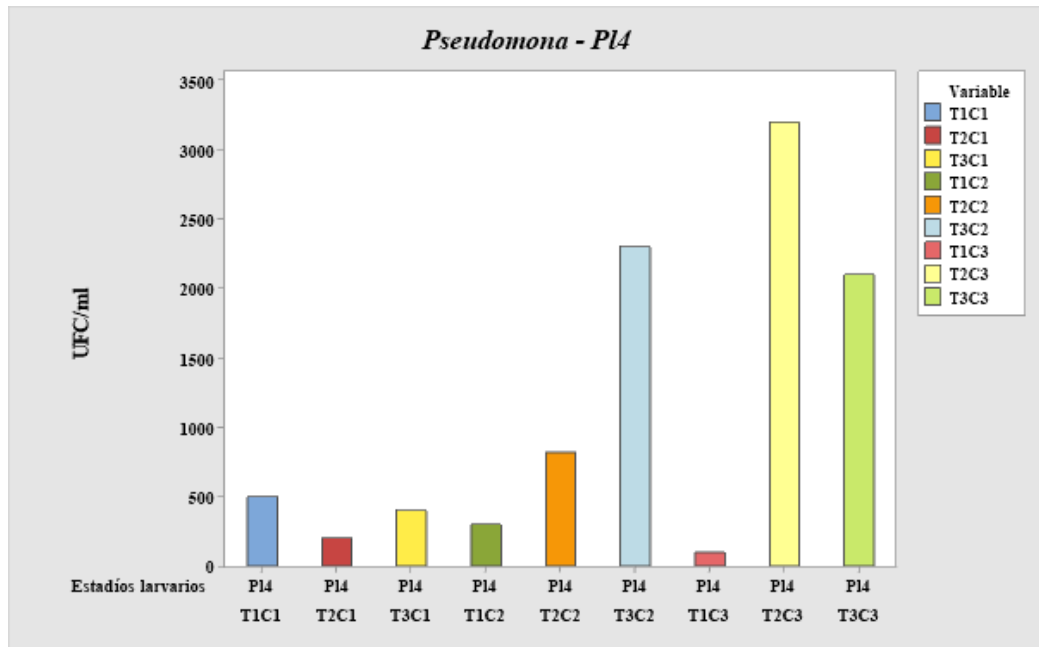
Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Postlarva 2



En la Figura 58, se observa las cargas más altas en T3C2, T2C3 y T3C3, mientras que la más baja registrada fue en T1C3.

Figura 58

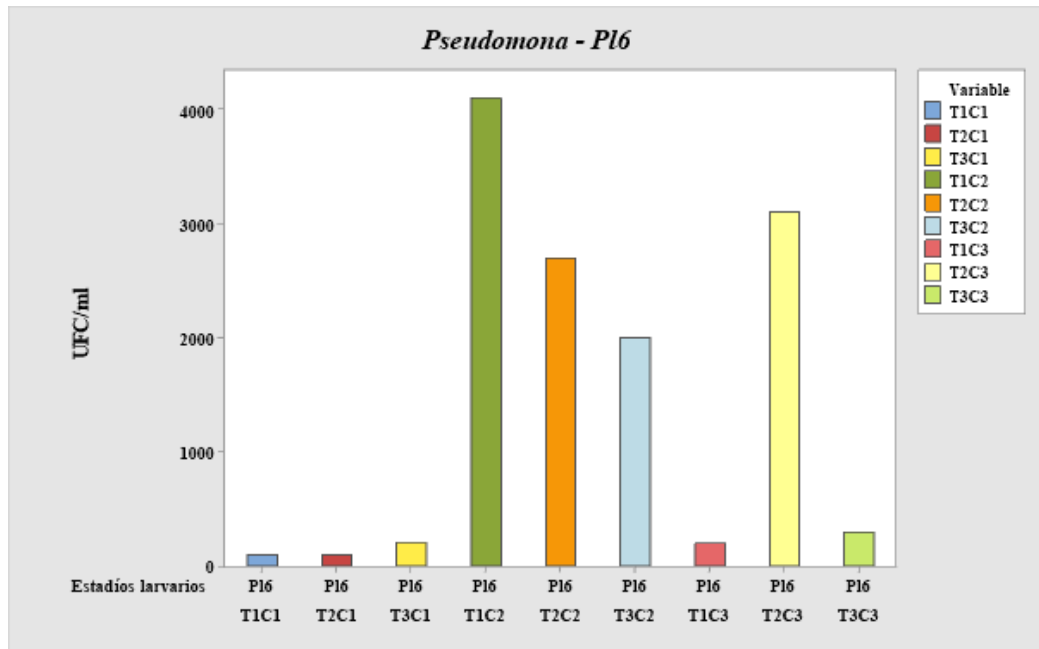
Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Postlarva 4



En la Figura 59, se observa las cargas más altas en T1C2, T2C2 y T2C3, por otro lado las más bajas se presentaron en los tratamientos del primer ciclo, T1C3 y T3C3.

Figura 59

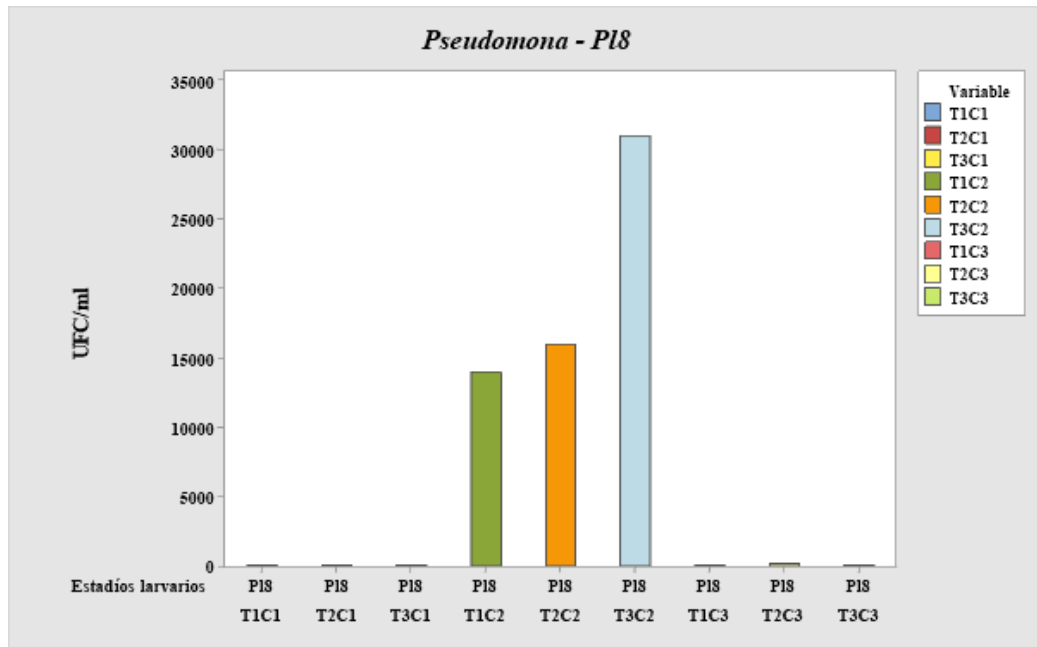
Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Postlarva 6



En la Figura 60, se registraron cargas bajas en los tratamientos, excepto en los del segundo ciclo.

Figura 60

Dinámica de crecimiento de Pseudomona en Postlarva 8



8.3.7 Bacterias totales

Los resultados de las bacterias totales presentes en la Figura 61, muestran cargas altas en todos los tratamientos, especialmente los del tercer ciclo.

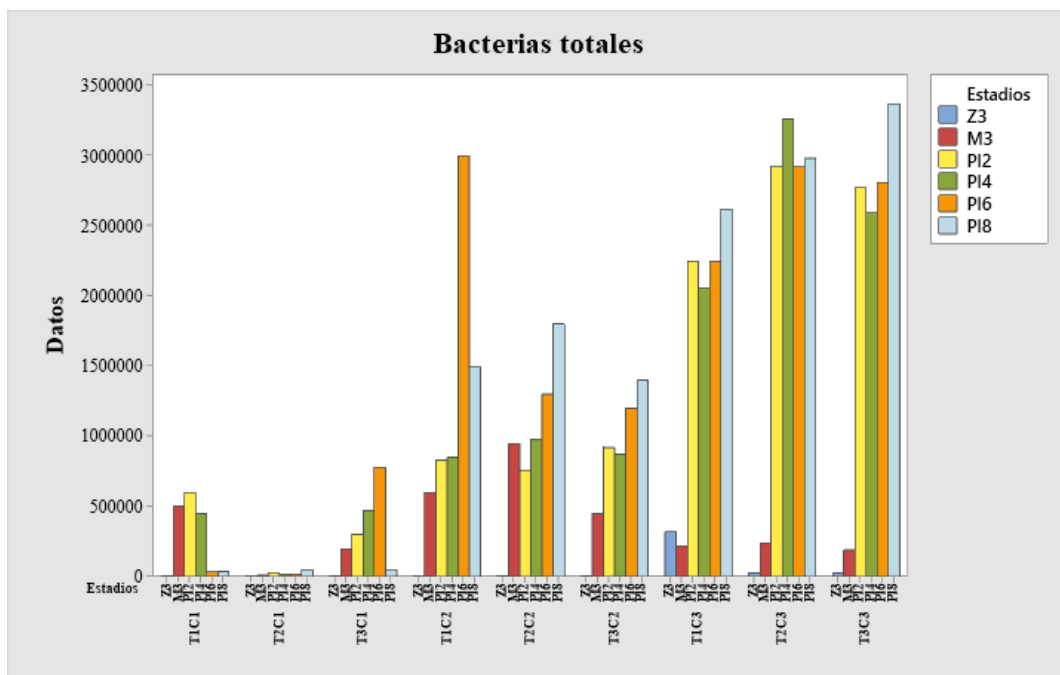
De acuerdo a los resultados del análisis por el método Tukey existen diferencias significativas entre tratamientos en relación a las bacterias totales (Anexo 21).

Según los resultados del análisis por el método Dunnett de los rangos normales para las colonias de Bacterias totales (Anexo 22), se observa que las medias de las cargas bacterianas obtenidas en la mayoría de los tratamientos no muestran diferencias

significativas en comparación con el valor de referencia (1.00E+04), con la excepción de T1C3, T2C3 y T3C3.

Figura 61

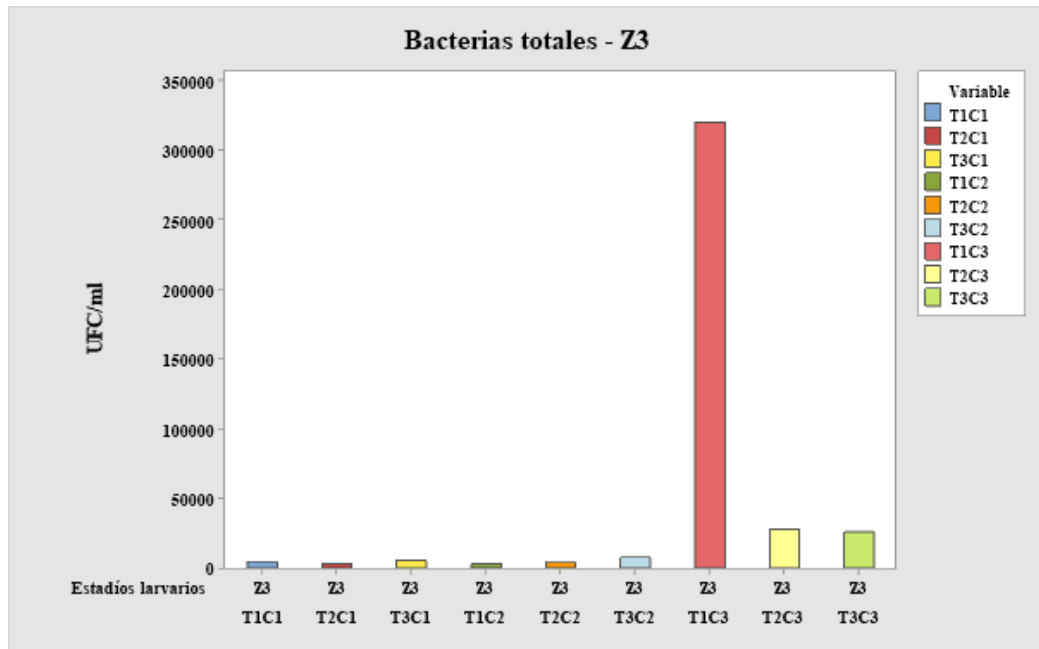
Dinámica de crecimiento de Bacterias totales por tratamiento y ciclo de producción



En la Figura 62, se observa que T2C3 y T3C3 tienen cargas bacterianas más elevadas en comparación con los otros tratamientos, pero son considerablemente menores que T1C3 que presentó la carga más alta.

Figura 62

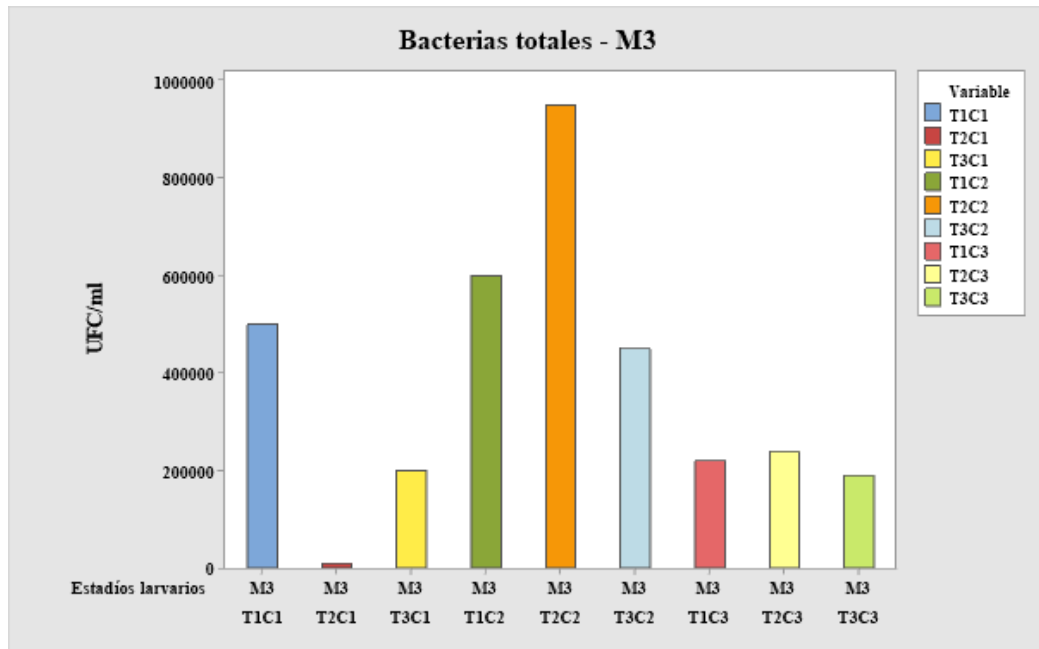
Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Zoea 3



En la Figura 63, se observa que T2C1 presentó la carga más baja de todos, por otro lado en T2C2 se registró la carga más alta.

Figura 63

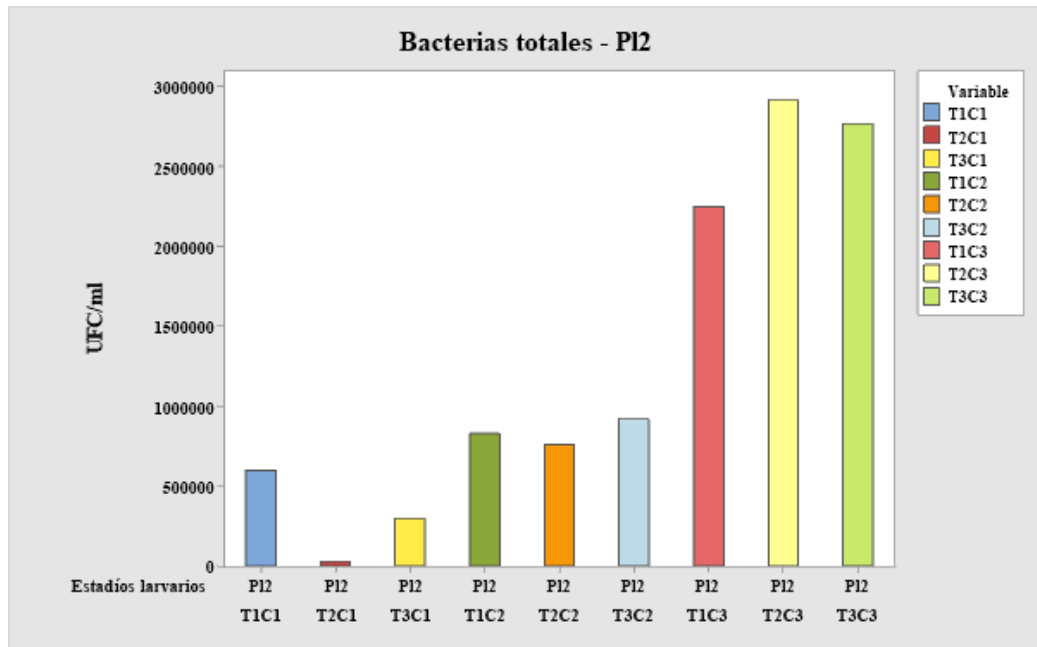
Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Mysis 3



En la Figura 64, se observa las cargas más altas en los tratamientos del tercer ciclo, por otro lado, en T2C1 se presentó la carga más baja.

Figura 64

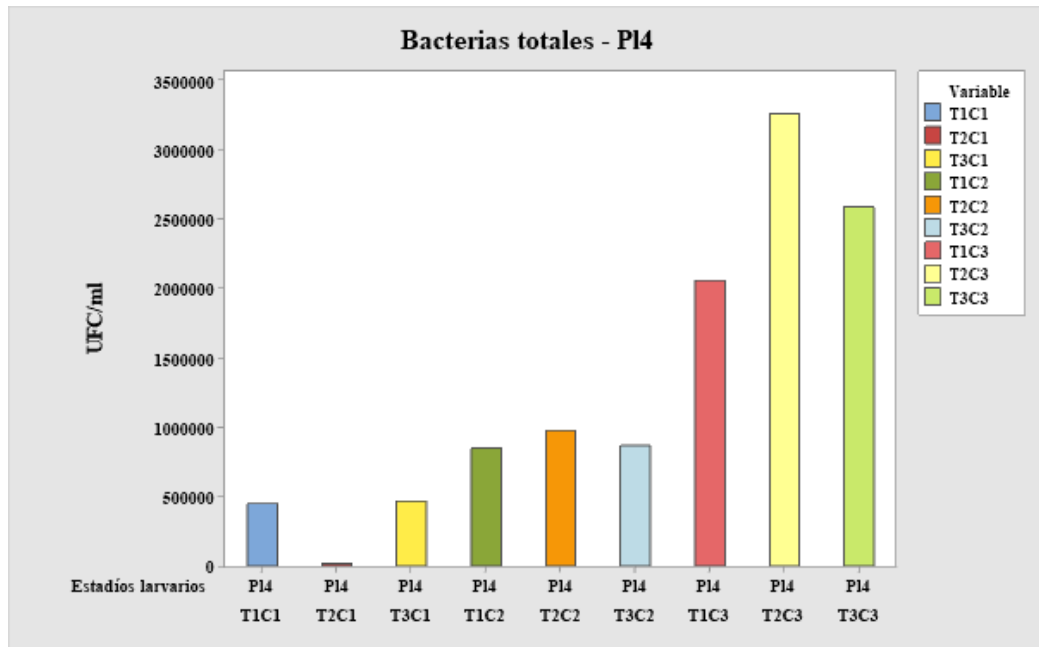
Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Postlarva 2



En la Figura 65, se observa la carga más alta en T2C3 y T3C3, mientras que T2C1 presentó la carga más baja.

Figura 65

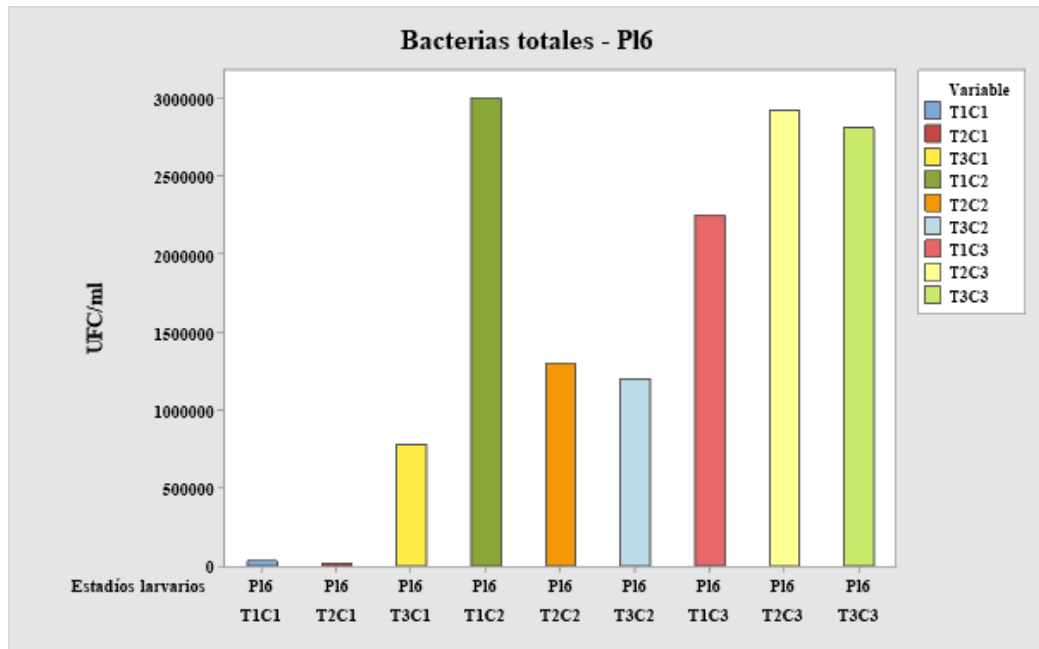
Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Postlarva 4



En la Figura 66, se observa la carga más alta en T1C2, T2C3 y T3C3, por otro lado, T1C1 y T2C1 mostraron las cargas más bajas.

Figura 66

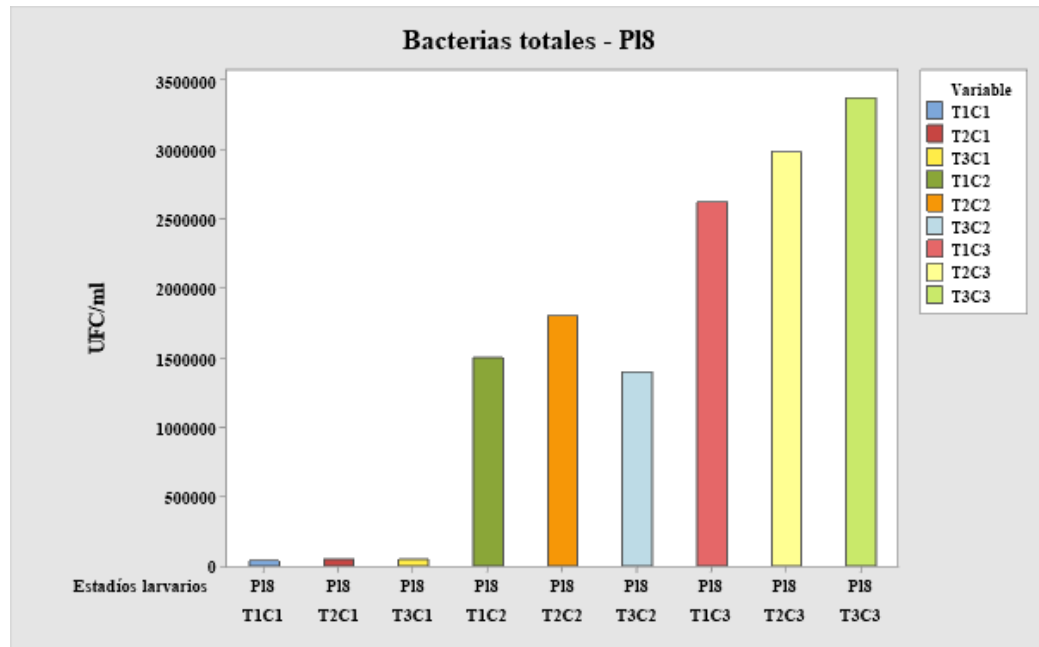
Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Postlarva 6



En la Figura 67, se observa la carga más alta en T2C3 y T3C3, mientras que los tratamientos del primer ciclo presentaron las cargas más bajas.

Figura 67

Dinámica de crecimiento de Bacterias totales en Postlarva 8



8.3.8 Supervivencia de postlarvas

Los datos de supervivencia final de las postlarvas para cada tratamiento a lo largo de los tres ciclos de muestreo (Figura 68). Destaca la mayor tasa de supervivencia observada en el T3 durante el segundo ciclo, alcanzando un 75.17%, mientras que la menor supervivencia se registró en T3 durante el primer ciclo, con un 39.16%.

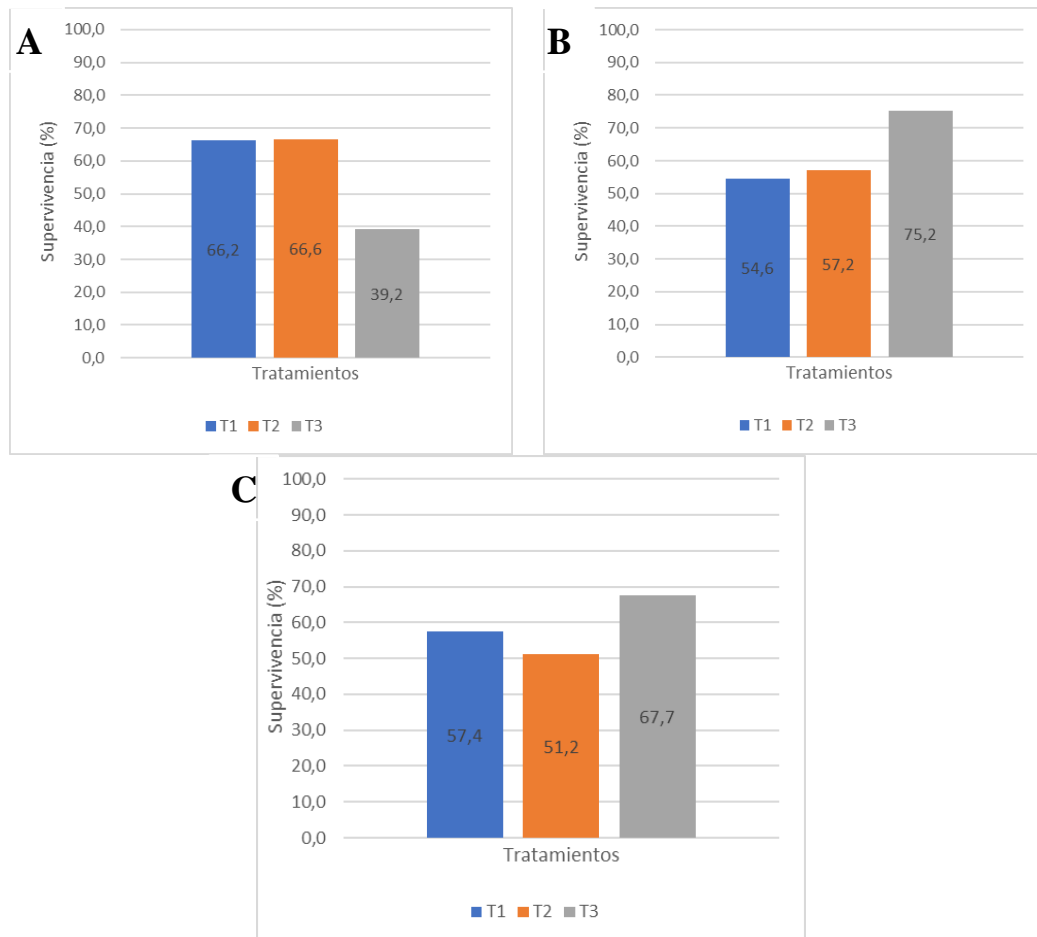
Durante el primer ciclo, el T2 exhibió la tasa de supervivencia más alta con 66.62%, contrastando con el T3 que registró el valor más bajo de 39.16%. En el segundo ciclo, el T3 fue la más alta con un 75.17%, mientras que el T1 obtuvo el valor más

bajo con un 54.60%. Por último, en el tercer ciclo, el T3 mantuvo la tasa más alta con un 67.70%, mientras que el T2 presentó el valor más bajo con un 51.20%.

De acuerdo a los resultados de la prueba Tukey no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) en la supervivencia de los tratamientos experimentales (Anexo 23).

Figura 68

Promedio de supervivencia de cada ciclo de producción



Nota. Porcentaje de supervivencia por tratamiento. A) ciclo 1, B) ciclo 2 y C) ciclo 3.

8.4 Análisis microscópico *L. vannamei*

En cuanto al análisis en fresco, este se llevó a cabo diariamente durante los primeros días de cultivo, desde la etapa Z1 hasta la Z3, obteniendo un total de 9 muestras por tratamiento. No se registraron anomalías en las larvas durante los 3 ciclos de producción.

Tabla 8

Control de calidad en estadíos Zoea en el primer ciclo de producción

| | Estadíos | Actividad natatoria | Contenido intestinal | Color hepatopáncreas | Necrosis | Deformidades |
|-------------|----------|---------------------|----------------------|----------------------|----------|--------------|
| C1T1 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 95 | 90 | Normal | 0 | <5 |
| | Z3/M1 | 95 | >95 | Normal | 0 | <5 |
| C1T2 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 90 | 85 | Normal | 0 | <5 |
| | Z3/M1 | 95 | >95 | Normal | 0 | <5 |
| C1T3 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 95 | 85 | Normal | 0 | <5 |
| | Z3/M1 | 90 | 95 | Normal | 0 | <5 |

Nota. La actividad natatoria se mantuvo entre 90 y 95 %, el contenido intestinal entre 85 y 98 %, el color de hepatopáncreas oscuro (normal), sin presencia de necrosis y deformidades entre 1 y 4 %.

Tabla 9*Control de calidad en estadios Zoea en el segundo ciclo de producción*

| | Estadios | Actividad natatoria | Contenido intestinal | Color hepatopáncreas | Necrosis | Deformidades |
|-------------|----------|---------------------|----------------------|----------------------|----------|--------------|
| C2T1 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 95 | 90 | Normal | 0 | 5 |
| | Z3/M1 | 95 | >95 | Normal | 0 | <5 |
| C2T2 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 90 | 85 | Normal | 0 | 5 |
| | Z3/M1 | 95 | >95 | Normal | 0 | <5 |
| C2T3 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 95 | 90 | Normal | 0 | 5 |
| | Z3/M1 | 95 | 98 | Normal | 0 | <5 |

Nota. La actividad natatoria se mantuvo entre 90 y 95 %, el contenido intestinal entre 85 y 98 %, el color de hepatopáncreas oscuro (normal), sin presencia de necrosis y deformidades entre 1 y 5 %.

Tabla 10*Control de calidad en estadios Zoea en el primer ciclo de producción*

| | Estadios | Actividad natatoria | Contenido intestinal | Color hepatopáncreas | Necrosis | Deformidades |
|-------------|----------|---------------------|----------------------|----------------------|----------|--------------|
| C3T1 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z3/M1 | 95 | >95 | Normal | 0 | <5 |
| C3T2 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z3/M1 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| C3T3 | Z1/Z2 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z2/Z3 | 95 | 95 | Normal | 0 | <5 |
| | Z3/M1 | 95 | >95% | Normal | 0 | <5 |

Nota. La actividad natatoria se mantuvo 95 %, el contenido intestinal entre 95 y 97 %, el color de hepatopáncreas oscuro (normal), sin presencia de necrosis y deformidades entre 1 y 3 %.

9. DISCUSIONES

El presente estudio se realizó con el propósito de evaluar el efecto de tres protocolos de aplicación de probióticos comerciales en la producción intensiva de larvas de camarón, considerando la carga bacteriana de los organismos y las tasas de supervivencia. Actualmente, se emplean diversas medidas profilácticas para fortalecer los mecanismos de defensa del organismo y controlar enfermedades en el cultivo (Ramírez, 2023), entre las cuales destacan la aplicación de probióticos, ácidos orgánicos (Escobar & Silva, 2023) y aceites esenciales (Reyes, 2021). Es necesario mencionar que todos los tratamientos fueron manejados con el mismo protocolo de aplicación de ácidos orgánicos y aceites esenciales, debido a su influencia en el control de las cargas bacterianas.

Los probióticos fueron aplicados junto alimento con el fin de asegurar que las larvas consumieran los microorganismos, a excepción del probiótico A, que fue administrado previo a la siembra, y el B, que se agregó directamente al agua. Práctica que coincide con lo propuesto por Maura (2023), Novriadi et al. (2023), Hamidoghli et al. (2020), Huynh et al. (2018), Vidal et al. (2018), Vieira et al. (2016), Zorriehzahra et al. (2016), y Kumar et al (2008) quienes mencionan que la administración de probióticos junto con el alimento es más beneficiosa que aplicarlos directamente al agua. Esta estrategia permite que los probióticos colonicen y se adhieran al tracto digestivo, estimulando así el sistema inmunológico

y promoviendo la resistencia a enfermedades, además de mantener condiciones óptimas de calidad de agua.

Los promedios de temperatura diaria registrados durante todo el proceso experimental se mantuvieron entre 32.5 y 34 °C, rangos que coinciden con lo realizado por Kumlu (2000) quien sometió a las larvas de camarón a diferentes rangos de temperatura obteniendo los mejores resultados a temperaturas de 30-34°C en relación al crecimiento y la metamorfosis durante las etapas iniciales de Zoea y Mysis de *Penaeus semisulcatus*. Esta idea se alinea con las observaciones de Bermudes – Lizárraga et al. (2017), quienes señalan que mantener la temperatura entre 30-35°C es crucial para el cultivo de larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*, ya que desviaciones de estos rangos pueden afectar su crecimiento. Además, destacan que la temperatura desempeña un papel fundamental en los primeros estadíos de vida del camarón.

Por su parte, Vanoni (2014) indicó que el rango de temperatura permisible para el cultivo de larvas es entre 32 a 34 °C; mientras que, Arzola (2013) menciona que las postlarvas (P112) presentan mejores condiciones de supervivencia a 20 y 25°C. Araneda et al (2020) obtuvo el mejor rendimiento productivo manteniendo las postlarvas (P115) a una temperatura superior a 26 °C. Sin embargo, Sonnenholzner et al (2002) y Motesdeoca et al. (2002) afirman que, en cultivos de camarones

juveniles sometidos a 33°C, la respuesta inmunitaria ante cargas virales es más efectiva que en condiciones de temperatura más bajas.

Por otro lado, los promedios diarios de salinidad se mantuvieron entre 24 y 31 ppt. Boyd (1989) sugiere que la salinidad ideal para el cultivo de *L. vannamei* se encuentra entre 15 y 25 UPS. Sin embargo, Chong-Robles et al. (2014) amplían este rango, indicando que los estadios larvarios (nauplio, Zoea y Mysis) se desarrollan mejor en salinidades entre 20 y 40 UPS, dado que *L. vannamei* es una especie eurihalina en su entorno natural. Coincidiendo con Bermudes – Lizárraga et al. (2017) señalan que la salinidad debe mantenerse dentro de los intervalos de 25-35 UPS para conseguir un óptimo crecimiento en las primeras etapas del camarón *L. vannamei*. Arzola (2013), extiende este rango para el caso de postlarvas (P12) de 5 a 45 UPS.

En el caso del oxígeno disuelto los promedios diarios se mantuvieron entre 4.5 y 5.3 mg/L. Según Cuéllar-Anjel (2010) las concentraciones óptimas de oxígeno disuelto para un crecimiento adecuado del camarón oscilan entre 4 y 12 mg/L. Esto concuerda con lo mencionado por Limsuwan (2009) quien recomienda mantener 4 mg/L durante el día y en la tarde 6 mg/L; además, señala que niveles de oxígeno disuelto por debajo de lo óptimo dificultan la respiración de las larvas de camarón, lo que puede llevarlas a un estado de estrés, disminuyendo su apetito y aumentando su susceptibilidad a enfermedades, lo que reduce su esperanza de vida. Ching

(2014), recomienda que el oxígeno disuelto se mantenga por encima de 5 mg/L en conjunto con una temperatura estable para reforzar a las postlarvas contra la vibriosis. Muñoz (2022) y Sánchez y Gándara (2011) explican que las variaciones en las concentraciones de oxígeno disuelto se atribuyen a la influencia de la temperatura, esto se debe a que mientras más alta sea la temperatura, la solubilidad del oxígeno en el agua disminuye.

El promedio diario de pH se mantuvo entre 7.75 y 8.35 rango que se encuentra dentro de lo recomendado por Fenucci (1998) quien establece que los niveles de pH entre 7 y 9 son ideales para el cultivo del camarón. Kubitza (2017) respalda esta afirmación, sugiriendo que valores dentro de este rango pueden mejorar la producción al coincidir con el pH de la hemolinfa del camarón. Por otro lado, Devi (2017) señala que los puntos críticos de acidez y alcalinidad se encuentran en < pH 4 y > pH 11 respectivamente. Las variaciones leves en el pH en cada etapa del cultivo, según Balakrishnan et al. (2011), pueden ser influenciadas por diversos factores, entre los cuales destaca la actividad biológica, la cantidad de insumos utilizados en el cultivo y la acidez en el fondo de los sistemas de producción.

Durante el periodo experimental se registró cargas elevadas en los cultivos de TSA para bacterias totales en los tres tratamientos principalmente en C2 y C3, sin embargo, las cargas de *Vibrio spp.* y *Pseudomona spp.* a excepción de T2C3 para *V. alginolyticus* y T1C2 para *V. parahaemolyticus*, no presentaron diferencias

significativas con respecto a los rangos normales de carga bacteriana, lo cual indica que al aplicar varios probióticos comerciales permite mantener una presencia abundante de bacterias benéficas dentro de los sistemas de producción intensiva, aprovechando así el principio de exclusión competitiva con el propósito de disminuir las poblaciones de *Vibrio spp.* Knipe (2021) menciona que utilizar especies o cepas con la capacidad de excluir competitivamente patógenos específicos con múltiples mecanismos de acción aumentará la probabilidad de una exclusión exitosa. Coincidiendo con lo propuesto por Toledo et al. (2018), quienes indican que la combinación de diferentes cepas es más efectiva que los probióticos compuestos por una sola especie para mejorar la supervivencia, el crecimiento y el factor de conversión alimenticia en la producción.

En los tres tratamientos fueron aplicados probióticos con potencial bioremediador para degradar y disminuir los residuos orgánicos presentes en el fondo de los tanques y en la columna de agua; sin embargo, es necesario complementar el efecto de estos probióticos con otros que cuenten con la capacidad de colonizar el tracto digestivo, especialmente en cultivos intensivos. Toro et al. (2020) utilizaron microorganismos eficaces (EM) logrando mejorar la calidad del agua y el factor de conversión alimenticia; sin embargo, obtuvieron supervivencias inferiores al 50%. Además, mencionan que es esencial mantener y reforzar la proliferación de bacterias benéficas en el medio acuático para que su diversidad se vea reflejada en la microbiota intestinal.

En el T1 se aplicó un probiótico compuesto por *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus lactis*, *Nitrosomonas sp* y *Nitrobacter sp* para colonizar el tracto digestivo y disminuir las cargas de *Vibrio spp.*, no obstante, se observaron diferencias significativas en las cargas de *V. parahaemolyticus* en el C2, se obtuvo tasas de supervivencia de 66.2, 54.6 y 57.4 %. García (2019) empleó el mismo producto en fase precría del cultivo de *L. vannamei* y obtuvo un 95% de supervivencia, demostrando la efectividad para colonizar el tracto digestivo, fortalecer el sistema inmune y mejorar la tasa de supervivencia. La diferencia entre ambos resultados es notoria, sin embargo, esto podría deberse a las diferencias entre condiciones experimentales en la fase de larvicultura y precría.

Por otro lado, Vidal et al. (2018) utilizaron cepas de *Bacillus cereus* aisladas de *L. vannamei* para evaluar su potencial probiótico ante infecciones experimentales con *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus*, demostrando la capacidad de esta cepa para colonizar el tracto digestivo y disminuir significativamente la carga de bacterias patógenas en el cultivo. Sin embargo, no encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en la supervivencia entre los tratamientos con la infección experimental con y sin adición del probiótico y el tratamiento control (sin infección ni probiótico).

Maura (2023) utilizó uno de los productos aplicados en T2 y T3 a base de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, calcio y Vitamina C y comparó su

efecto con otro compuesto de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, Betaglucanos, MOS, levaduras y complejos enzimáticos, obteniendo supervivencias del 65 y 70% respectivamente, además evidenció la disminución del factor de conversión de alimenticia con ambos productos en comparación al tratamiento testigo.

En el tratamiento 3 se utilizó productos comerciales para colonizar el tracto digestivo y controlar las cargas de *Vibrio spp.* compuestos por *Pediococcus acidolactici*, Vitamina E, Vitamina C y Selenio y *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus lactis*, *Nitrosomonas sp.*, *Nitrobacter sp.*, con los cuales se obtuvo supervivencias de 39.2, 75 y 67.7% y no se registró diferencias significativas con respecto a los rangos normales de cargas bacterianas. Thompson et al. (2022) realizó pruebas en el cultivo de juveniles utilizando sobrenadantes de *Lactobacillus curvatus subsp. curvatus*, *L. plantarum* y *Pediococcus acidolactici* con los cuales observó una disminución significativa de *Vibrio spp.*, sin embargo, no registró diferencias significativas en el crecimiento y la supervivencia de los organismos con respecto al tratamiento control, mencionando que las bacterias seleccionadas como probióticos que han sido testeadas en ensayos *in vitro* no siempre demuestran sus capacidades en pruebas *in vivo*.

No se registraron diferencias significativas en los datos de supervivencia de los tres tratamientos ($p>0.05$). Nimrat et al. (2021) analizó el efecto de tres dietas: una mezcla liofilizada de *Bacillus* (FB), una mezcla liofilizada de *Bacillus* con levadura (FBY) y otra solo con la mezcla liofilizada de levadura (FY), demostrando que con

la mezcla de probióticos liofilizados es posible obtener mejores tasas de crecimiento. No observó diferencias significativas ($p>0.05$) en la supervivencia de los tres grupos experimentales, pero si registró diferencias con respecto al grupo control. Por otro lado, los tres tratamientos fueron efectivos para reducir las poblaciones de *Vibrio spp.*

10. CONCLUSIONES

Durante los ciclos de producción se registró la presencia de *Vibrio spp.* y *Pseudomona spp.* con los medios de cultivo selectivos. Las cargas de *Vibrio spp.* presentaron una disminución a partir de P14 en todos los tratamientos, coincidiendo con la aplicación de los probióticos F y G; por otro lado, los conteos de *Pseudomona* se mantuvieron bajos durante toda la fase experimental. En el caso de las bacterias totales se registraron las cargas más altas en los tratamientos del tercer ciclo como resultado de la aplicación de probióticos comerciales.

Los parámetros físico-químicos del agua registrados en cada tratamiento no presentaron diferencias significativas a nivel estadístico, además, se mantuvieron dentro de los rangos recomendados por varios investigadores, lo que sugiere que estos factores no ejercieron influencia sobre las otras variables examinadas.

Aunque algunos de los datos obtenidos en los cultivos de cargas bacterianas están fuera de los rangos normales, gran parte de los tratamientos no presentaron diferencias significativas a nivel estadístico de acuerdo al análisis realizado con el método Dunnett. En el caso de *V. alginolyticus* únicamente el T2C3 tuvo diferencias significativas con los rangos normales. Para *V. vulnificus* ninguno de los tratamientos presentó diferencias significativas con los rangos normales. Para *V. parahaemolyticus* únicamente T1C2 presentó diferencias significativas con los

rangos normales. Lo que permite concluir que los 3 tratamientos fueron efectivos para controlar las cargas bacterianas de *Vibrio spp.* en el cultivo de postlarvas. En el caso de las *Pseudomona spp.* no se presentaron diferencias significativas con respecto a los rangos normales según el método Dunnett. Sin embargo, las Bacterias totales se presentaron diferencias significativas en T1C3, T2C3 y T3C3. Los tres tratamientos fueron efectivos para controlar las cargas bacterianas en el cultivo, lo que permite aceptar la hipótesis alternativa donde se indica que la combinación de probióticos comerciales aplicados como complemento del alimento balanceado reduce la presencia de bacterias patógenas en el cultivo intensivo de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei*.

Los resultados de supervivencia fueron similares en los tres ciclos de producción, no se presentaron diferencias significativas a nivel estadístico ($p>0.05$), sin embargo, en el primer ciclo se registró un porcentaje de supervivencia bajo en el T3; por otro lado, en el segundo ciclo se registró mejores resultados con el T3 con un 75.2%.

11. RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones con mezclas de probióticos comerciales en diversas etapas del cultivo de *L. vannamei* como larvicultura, precría y engorde analizando su influencia en los parámetros productivos. Estas investigaciones podrían proporcionar información valiosa para optimizar las estrategias de uso de probióticos en la acuicultura de *L. vannamei*, contribuyendo así a una producción más sostenible y rentable.

Utilizar diferentes grados de dilución para facilitar y precisar el conteo de colonias bacterianas, sobre todo con el agar TSA.

Realizar futuras investigaciones analizando la presencia de otros agentes patógenos, como el caso de los hongos, debido a que, en la larvicultura de camarón blanco, podrían ser un factor perjudicial en el desarrollo de los indicadores productivos.

Utilizar larvas provenientes del mismo laboratorio de Maduración para asegurar la homogeneidad de las muestras y evitar variaciones en los parámetros productivos.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Achupallas, J., Zhou, Y., & Davis, D. (2015). Pond production of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed grain distillers dried yeast. *Aquaculture Nutrition*.
- Aguilera Mero, K. D., García Calderón, B. P., & Bayot Arroyo, B. (2021). *Factibilidad de aplicar secuenciación de alto rendimiento para el descubrimiento de bacterias probióticas para larvas Penaeus vannamei (Doctoral dissertation, ESPOL. FIMCM: Acuicultura)*.
- 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>
- Aich, N., Ahmed, N., & Paul, A. (2018). Issues of antibiotic resistance in aquaculture industry and its way forward. *Microbiology and Applied Sciences*, 7(08) pp. 26-41.
- Akhter N., Wu B., Memon A.M., Mohsin M. (2015). Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. *Fish Shellfish Immunology*, 45:733-741.
- 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/https://doi.org/10.1111/anu.12265>
- Alonso Castillo, L. A., & Hernández Fernández, A. J. (2011). *Crecimiento de camarón blanco cultivado en dos densidades de siembra en estanques de concreto con aeración. Obtenido de Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua*.
- 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.

- Arzola, J., Piña, P., Nieves, M., & Medina, M. (2013). Supervivencia de postlarvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* a diferentes salinidades y temperaturas. *Revista MVZ Córdoba*, 18, 3618-3625.
- Austin, B. (2010). Vibrios as causal agents of zoonoses. *Veterinary Microbiology*, 140 (3-4), 310–317.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.015>
- Azuero, E. S. U., Montealegre, V. J. G., Campoverde, J. M. Q., & Unda, S. B. . (2021). Análisis del comportamiento económico de la exportación en el sector camaronero en el Ecuador, periodo 2015-2019. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 4(S1), 112-119.
- Briones Pérez, E; Hernández Acosta, E; Leal Mendoza, AI; Calvario Rivera, CI. . (2017). La calidad del agua en diferentes unidades de producción acuícola de Tlaxcala, México. *Revista Iberoamericana de Ciencias ISSN 2334-2501*, Vol. 4 No. 5 41 – 48.
- Burbano Gallardo, E. (2014). *Supervivencia de postlarvas de camarón (Litopenaeus vannamei) sometidas a prueba de estrés osmótico y su relación con el estado de muda. Tesis Ingeniero en producción acuícola. Pasto, Colombia. Universidad de Nariño.*
- Burgo-Ranadán, AM; Arias-Rodríguez, A. (2020). *Vibrio parahaemolyticus* en los productos marinos. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 20 (4).
[https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/Hig._Sanid_.Ambient.20.\(4\).1945-1957.\(2020\).pdf](https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/Hig._Sanid_.Ambient.20.(4).1945-1957.(2020).pdf)
- Caballero Solano, S. M. (2015). *Análisis de costos de cultivo de larvas de camarón y su influencia en la rentabilidad de la empresa Maramar SA (Bachelor's thesis).*
- Cámara Nacional de Acuicultura. (2023). *Estadísticas*. <https://www.cna-ecuador.com/estadisticas/>
- 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].*

<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/3107/1/225254.pdf>

CESASIN. (2003). *Técnicas de bacteriología, análisis en fresco, calidad de agua y buenas prácticas manejo y bioseguridad de manejo y bioseguridad en granjas camaroneras.*

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/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.05.011>

Chen, W. Y., Ng, T. H., Wu, J. H., Chen, J. W., Wang, Han ChingChen, W. Y., Ng, T. H., Wu, J. H., Chen, J. W., & Wang, H. C. (2017). Microbiome dynamics in a shrimp grow-out pond with possible outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease. *Scientific Reports*, 7(1), 1–12.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41598-017-09923-6>

Ching, C. (2014). Manejo de raceways y/o pre-crías en el cultivo del camarón marino. (Presentación en Power Point). Nicovita-VITAPRO. Tumbes, Perú.

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.

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. (2013). Tipos de Vibriosis. The center food security and public health. https://www.cfsph.iastate.edu/search_gcse/?q=vibriosis

- Cunalata Romero, C. E., Sánchez Vega, T. M., & Romero, M. E. (2018). *Análisis de factibilidad financiera para la expansión y acondicionamiento de las instalaciones de una camaronera ubicada en vía Durán-Tambo (Doctoral dissertation)*.
- Defoirdt, T. (2014). Virulence mechanisms of bacterial aquaculture pathogens and antivirulence therapy for aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 6(2), 100-114. <https://doi.org/doi: 10.1111/raq.12030>
- Delgado, P. (2019). *Diseño de un sistema de control aplicado al proceso de cría de larvas de camarón para el Grupo Empresarial LARDEMA, Módulo San Juan. Trabajo de Titulación*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo. Carrera de Ingeniería Eléctrico Mecánica. Guayaquil-Ecuador.
- Dominguez Cruz, A. J., & Vera Lazo, K. E. (2022). *Calidad de agua y desarrollo larval de Litopenaeus Vannamei en tanques para larvicultura con aireación artesanal y manguera microporosa (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala)*.
- Emerson, K., Russo, R. C., Lund, R. E., & Thurston, R. V. (1975). Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 32(12), 2379-2383.
- Escobar Benavides, C. E., & Silva Jacome, A. M. (2023). *Efecto de los ácidos orgánicos en la carga bacteriana de vibrios spp. en el camarón blanco (litopenaeus vannamei)*.
- FAO. (2015). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Visión general del sector acuícola nacional: http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_ecuador/es
- Fenucci, J. (1988). Manual para la cría de camarones peneidos. *FAO*. <https://www.fao.org/3/ab466s/AB466S00.htm#TOC>
- Flegel, T. W. (2012). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110(2), 166–173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.03.004>

- Franco, R., Martín, L., Arenal, A., Santiesteban, D., Sotolongo, J., Cabrera, H., Castillo, N. M. (2016). Evaluation of two probiotics used during farm production of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Aquaculture Research*. <https://doi.org/doi: 10.1111/are.13031>
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of applied bacteriology*, 66(5), 365-378.
- Fuller, R. (1992). History and development of probiotics. En R. Fuller. *Probiotics: The scientific basis*). Springer, pp. 1-8. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-94-011-2364-8>
- Gamboa-Delgado, J., Fernández-Díaz, B., Nieto-López, M., & Cruz-Suárez, L. E. (2016). Nutritional contribution of torula yeast and fish meal to the growth of shrimp *Litopenaeus vannamei* as indicated by natural nitrogen stable isotopes. *Aquaculture*, 453, 116-121.
- García Camizán, R. (2019). Efecto de la aplicación del probiótico en el crecimiento, supervivencia y estado sanitario de *Litopenaeus vannamei* en etapa de precría.
- García Hoyos, N. V. (2018). Efecto del uso de probióticos sobre el crecimiento y supervivencia de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en sistema superintensivo con invernadero.
- García, J., Ulloa, J., & Mendoza, S. (2021). Patógenos bacterianos y su resistencia a los antimicrobianos en los cultivos de tilapia en Guatemala. *Scielo*, 14.
- García, M., Medina, R., Campa, A., Tovar, D., Barajas, D., Ormart, P. & Mazón, J. (2020). Crecimiento y supervivencia del camarón *Penaeus vannamei* con aplicación de actinomicetos probióticos y homeopatía. *AquaTechnica*, 2(2): 76-85.
- Garnica Delgado, F. (2016). *Rediseño del Sistema Térmico Para la Producción de Nauplios de Camarón. Obtenido de Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.* <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/97065/D-CD88353.pdf>
- Gómez, B., Roque, A., & Soto, S. (2010). Vibriosis en camarones y su diagnóstico. *Centro de investigación en alimentación y desarrollo*, 1-15.

- Gómez, G., Roque, A., & Guerra, F. (2018). Enfermedades Infecciosas más Comunes en la Camaronicultura en México y el Impacto del Uso de Antimicrobianos. *Scielo*, 117.
- Gómez, J. M. (2020). Probióticos: productos monocepa frente a productos multicepa. *Microbiota Probióticos Prebióticos*.
- González Serrano, G. M. (2022). *Análisis del crecimiento de larvas de camarón Litopenaeus vannamei en el laboratorio LARVALABSO, Mar Bravo–Ecuador*. (Bachelor's thesis La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2022).
- Gullian Klanian, M. (2015). *Estudio del efecto inmunoestimulante de bacterias probióticas asociadas al cultivo de Penaeus Vannamei*. (Master's thesis, Espol).
- Gutiérrez Falcón, A. I. (2021). *Nuevas cepas probióticas para acuicultura (Doctoral dissertation)*. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
- Hai, N. (2015). Research findings from the use of probiotics in tilapia aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology*, 45(2), 592-597. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.026>.
- Hamidoghli, A., Won, S., Farris, N. W., Bae, J., Choi, W., Yun, H., & Bai, S. C. (2020). Solid state fermented plant protein sources as fish meal replacers in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Animal Feed Science and Technology*, 264.
- HC4-BIOTEC. (2020). *Hábito alimentario y desarrollo del camarón* . Blogspot.com: <https://hc4-biotec.blogspot.com/2020/06/el-habito-alimentario-del-camaron.html>
- Hoseinifar, S. H., Sun, Y. Z., & Caipang, C. M. (2016). Short-chain fatty acids as feed supplements for sustainable aquaculture: an updated view. *Aquaculture Research*.
- Hossain, M. S., Dai, J., & Qiu, D. (2021). Dysbiosis of the shrimp (*Penaeus monodon*) gut microbiome with AHPND outbreaks revealed by 16S rRNA metagenomics analysis. *Aquaculture Research*, 52(7), 3336–3349. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/are.15178>

- 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.
- Jamal, M. T., Abdulrahman, I. A., Al Harbi, M., & Chithambaran, S. (2019). Probiotics as alternative control measures in shrimp aquaculture: A review. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 7(3), 69-77.
- Joshi, J., Srisala, J., Truong, V. H., Chen, I. T., Nuangsaeng, B., Suthienkul, O., Lo, C. F., Flegel, T. W., Sritunyalucksana, K., & Thitamadee, S. (2014). Variation in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from a single Thai shrimp farm experiencing an outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture*, 428-429, 297-302. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.030>
- Knipe, H., Temperton, B., Lange, A., Bass, D., & Tyler, C. R. (2021). Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 324-352.
- Kua, B. C., Iar, A., Siti Zahrah, A. ., Irene, J. ., Norazila, J. ., Nik Haiha, N. Y. ., Fadzilah, Y. ., Mohammed, M. ., Siti Rokhaiya, B. ., Omar, M. ., & Teoh, T. P. (2016). Current status of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of farmed shrimp in Malaysia. Proceedlossesings of the ASEAN Regional Technical Consultation on EMS/AHPND and Other Transboundary Diseases for Improved Aquatic Animal Health in Southeast As. *Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center*, 55-59. <http://hdl.handle.net/10862/3090%0Ahttps://repository.seafdec.org>
- 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 (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 98(2), 279-289. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jpn.12078>
- Kumar, T. S. (2017). Zoea-2 syndrome of *Penaeus vannamei* in shrimp hatcheries. *Aquaculture*.

- Kumar, V, Roy S., Meena, K. D. and Sarkar, U. K. (2016). Application of probiotics in shrimp aquaculture: mechanisms of action and methods of administration. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* , 24, 342-368.
- Kumlu, M. E. T. İ. N., Eroldogan, O. T., & Aktas, M. (2000). Effects of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*. *Aquaculture*, 188(1-2), 167-173.
- Lai, H. C., Ng, T. H., Ando, M., Lee, C. Te, Chen, I. T., Chuang, J. C., Mavichak, R., Chang, S. H., Yeh, M. De, Chiang, Y. A., Takeyama, H., Hamaguchi, H. o., Lo, C. F., Aoki, T., & Wang, H. C. (2015). Pathogenesis of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. *Fish and Shellfish Immunology*, 47(2), 1006–1014. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.11.008>
- Lamari, F., Sadok, K., Bakhrouf, A., & Gatesoupe, F.-J. (2014). Selection of lactic acid bacteria as candidate probiotics and in vivo test on *Artemia nauplii*. *Aquaculture International*, 22(2), 699-709.
- Laranja, J. L. Q., Ludevese-Pascual, G. L., Amar, E. C., Sorgeloos, P., Bossier, P., & Schryver, P. D. (2014). Poly-b-hydroxybutyrate (PHB) accumulating *Bacillus* spp. improve the survival, growth and robustness of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) postlarvae. *Veterinary Microbiology*, 173, 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.08.011>
- Lightner, D. V., & Redman, R. M. (1998). Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture*, 164(1–4), 201–220. [https://doi.org/doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00187-2](https://doi.org/doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00187-2)
- Limsuwan, C. &. (2013). *Postlarvae evaluation key to controlling shrimp diseases*. Global Seafood Alliance: <https://www.globalseafood.org/advocate/postlarvae-evaluation-key-tocontrolling-shrimp-diseases/>
- Limsuwan, C. (2009). Experiencias en el cultivo del camarón Blanco en Tailandia. *Aquaculture Business Research Center, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Thailand* , 6p.
- 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 Immunol*, 41(2), 300-307. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.08.028>

Lomeli & Martinez. (2014). Phage therapy against *Vibrio parahaemolyticus* infection in the white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. *Aquaculture*, 208-211.

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>

Marcillo Morla, F. (2014). *Metodología de cultivo comercial de camarón en Ecuador especies: Penaeus (Litopenaeus) vannamei P. stylirostris*. Slideplayer: <https://slideplayer.es/slide/1641546/>

Martín Ríos, L. D., Corrales Barrios, Y., González Salotén, M., Carrillo Farnés, O., Cabrera Alarcón, H., & Arenal Cruz, A. (2022). Principales factores que modifican el sistema inmune en camarones peneidos estrategias para un cultivo sostenible. *Revista de Producción Animal*, 34(1), 103-126.

Maura Quintuña, G. (2023). *Evaluación de probióticos comerciales en el crecimiento, supervivencia y estado sanitario del camarón blanco Litopenaeus vannamei cultivado bajo condiciones de laboratorio*. (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2023).

Melgar Valdés, C. E., Barba Macias, E., Alvarez-Gonzalez, C. A., Tovilla Hernandez, C., & Sanchez, A. J. (2013). Microorganisms effect with probiotic potential in water quality and growth of the shrimp *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) in intensive culture. *Rev Biol Trop*, 61(3), 1215-1228.

Melo, F. P. D., Ferreira, M. G. P., Lima, J. P. V. D., & Correia E. D. S. (2015). Cultivo do camarão marinho com bioflocos sob diferentes níveis de proteína com e sem probiótico. *Revista Caatinga*, 28, 202-210.

- Merrifield, D. L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S. J., Baker, R. T. M., Børgwald, J., Castex, M., y Ringø, E. (2010). The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302 (1-2), 1-18.
- Meyer, D. (2004). Introducción a la Acuicultura. Zamorano, Escuela Agrícola Panamericana, Honduras. 159 p.
- Mohajeri, J. A. (2011). Immunological and histopathological changes in *Penaeus semisulcatus* challenged with *Vibrio harveyi*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* , 10(2), 254-265.
- 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*.
- Moreira, D., & Méndez, Y. (2024). Caracterización de bacterias nativas con potencial probiótico en el cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*) en Guayas, Ecuador. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador. 82 pp.
- Motesdeoca, M. A. (2002). La respuesta inmunitaria celular del camarón lv y su utilidad en el control de la enfermedad en estanques.
- Muñoz Acosta, D. A. (2022). *Validación de estrategias profilácticas en larvicultura del camarón Penaeus vannamei en la provincia de Santa Elena, Mar Bravo*. La Libertad. UPSE, Matriz. Facultad de Ciencias del Mar.
- Newman, S. (2022). *Una actualización sobre la vibriosis, la principal enfermedad bacteriana que enfrentan los camarones*. Globalseafood: <https://www.globalseafood.org/advocate/una-actualizacion-sobrela-vibriosis-la-principal-enfermedad-bacteriana-que-enfrentan-loscamarones/>
- Nimrat, S; Khaopong, W; Sangsong, J; Boonthai, T; Vuthiphandchai, V. (2021). Dietary administration of *Bacillus* and yeast probiotics improves the growth, survival, and microbial community of juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Aquaculture* 33(1). <https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1655517>

- Novriadi, R; Prihadi, TH; Saragih, HSD; Kesselring, J; Standen, B. (2023). Well-defined multispecies probiotic and enzyme combination outperforms traditional fermented probiotic applications in an intensive Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), culture system. *Journal of the World Aquaculture Society* 54.
- Obando Velez , D. E. (2023). Aplicación de cúrcuma como medida profiláctica en la mejora de la respuesta fisiológica de larvas de camarón *Litopenaeus vannamei* (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena).
- OSPESCA. (2013). Nueva enfermedad “EMS/AHPNS” en camarones cultivados en Asia. <https://www.sica.int/busqueda/Noticias.aspx?IDItem=76463&IDCat=2&IdEnt=>
- Otero, J. (2018). *Enfermedades bacterianas mas comunes en la larvicultura del camarón blanco Litopenaeus vannamei y sus métodos de control* . <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/12225>
- Peña-Navarro, N., Castro-Vásquez, R., Vargas-Leitón, B., & Dolz, G. (2020). Detección molecular de la enfermedad de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) en camarones *Penaeus vannamei* en Costa Rica. *Acuicultura*, 523 , 735190.
- Qiu, X., & Davis, D. A. (2017). Evaluation of flash dried yeast as a nutritional supplement in plant-based practical diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 23(6), 1244-1253.
- Ramírez Aquino, O. F. (2011). *Análisis y propuestas de mejoras en la productividad del laboratorio de larvas de camarón*. Tesis de grado, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/4147/1/4117.RAMIREZ%20AQUINO%20OCTAVIO.pdf>
- Ramírez Muñoz, M. R. (2023). *Estrategia de cultivo basada en Inmunomodulación utilizando Probióticos y Biopolímeros Inmunoestimulantes en camarones Penaeus vannamei para mitigar mortalidades causadas por Vibrio parahaemolyticus (Doctoral dissertation, ESPOL. FCV)*.

- Restrepo, L., Domínguez-Borbor, C., Bajaña, L., Betancourt, I., Rodríguez, J., Bayot, B., & Reyes, A. (2021). Microbial community characterization of shrimp survivors to AHPND challenge test treated with an effective shrimp probiotic (*Vibrio diabolicus*). *Microbiome*, 9(1), 1-20. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01043-8>
- Reyes Campoverde, R. N., Valle Cedeño, C. E., & Márquez, A. (2021). *Diseño de un protocolo de inclusión de aceites esenciales, como profiláctico y nutracéutico, para la optimización del proceso de producción de camarón blanco (Penaeus vannamei) (Doctoral dissertation, ESPOL. FIMCM: Acuicultura)*.
- 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. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/6640/1/UPSE-TBI-2021-0016.pdf>
- Ringo, E., Zhou, Z., Vecino, J., Wadsworth, S., Romero, J., Krogh, A., Merrifield, D. (2016). Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals : a never-ending story? *Aquaculture Nutrition*, 22(2), 219–282. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/anu.12346>
- Saltos Castro, J. J. (2020). *1. El sector camaronero y su incidencia en el crecimiento económico de la provincia del Guayas durante el periodo 2013-2018*. (Bachelor's thesis).
- Sánchez-Ortiz, A. C., Angulo, C., Luna-González, A., Álvarez-Ruiz, P., MazónSuástegui, 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.
- 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). <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/17520/1/ECUACA2021-IAC-DE00019.pdf>

- 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.
- Serrano Mena, L. V. (2014). *Control biológico de patógenos de camarón mediante el uso de microorganismos aislados de muestras de biol y suelo de la Antártida*. (Bachelor's thesis, ESPOL. FIMCM: Acuicultura).
- Skretting. (2018). *Manual de larvicultura*. <https://libreriascretting.ec/admin/public/uploads/catalogos/manual-larvicultura-skretting.pdf>
- Sonnenholzner, S., Rodríguez, J., Pérez, F., Betancourt, I., Echeverría, F., & Calderón, J. (2002). Supervivencia y respuesta inmune de camarones juveniles lv desafiados por via oral a wssv a diferentes temperaturas.
- Sorroza Ochoa, L. (2012). *Propuesta de nuevas cepas probióticas para su uso en acuicultura (Doctoral dissertation)*. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
- Sotomayor, M. A., & Balcázar, J. L. (2016). Inhibición de vibrios patógenos de camarón por mezclas de cepas probióticas. *Revista AquaTIC*, (19).
- Suárez Medina, S. A. (2024). *Valoración profiláctica de mezcla de bacterias probióticas y su aplicación en la larvicultura de Litopenaeus vannamei en laboratorio Marcor 1 ubicado en Pacoa-Ecuador*. (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena. 2024).
- Thompson, F., Brian, A., & Swing, J. (2006). The Biology of Vibrios. In F. L. Thompson, B. Austin, & J. Swings (Eds.). *The Biology of Vibrios*. ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555815714>
- Thompson, J; Weaver, MA; Lupatsch, I; Shields, RJ; Plummer, S; Coates, CJ; Rowley, AF. (2022). Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Against Pathogenic Vibrios and Their Potential Use as Probiotics in Shrimp (*Penaeus vannamei*) Culture. *Frontiers in Marine Science* 9.

- 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.
- Toro, D; Llanco, L; Lora, M; T, RT; Serrano-Martínez, E. (2020). 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), 47-55. <https://doi.org/10.20453/stv.v8i2.3873>
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohny, L. L., Pantoja, C. R., Fitzsimmons, K., & Lightner, D. V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105(1)1 46-55. <https://doi.org/https://doi.org/10.3354/dao02621>
- Valarezo Villacrés, G. O. (2016). *Incidencia de las dietas alimenticias en el crecimiento de larvas de camarón (Penaeus vannamei)*. Obtenido de Tesis de grado, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Vanoni, F. (2014). Alternativas de sistemas de primeras fases en acuicultura 2014. (Presentación en Power Point). Epicore Bio Networks Inc. Latin America Technical Sales Manager. <https://abccam.com.br/wp-content/uploads/2014/11/Cultivo-do-camar%C3%A3o-L.-vannamei-em-Raceways-com-utiliza%C3%A7%C3%A3o-de-probi%C3%B3ticos--Fabrizzio-Vanoni.pdf>
- Velázquez-Román, J., León-Sicairos, N., de Jesus Hernández-Díaz, L., & Canizalez-Roman, A. (2014). Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 on the American continent. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3.
- Vera Morales, M. X. (2014). *Efecto de una combinación del probiótico Pediococcus acidilactici con vitaminas y antioxidantes en el crecimiento y supervivencia del camarón blanco Litopenaeus vannamei*. (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil).
- 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.

- Vidal, JMA; Pessôa, MNDC; Santos, FLD; Mendes, PDP; Mendes, MS. (2018). Probiotic potential of *Bacillus cereus* against *Vibrio spp.* in port-larvae shrimp. *Revista Caatinga* 31, 496-501. <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n226rc>
- Vieira, F. d. N., Jatobá, A., Mouriño, J. L. P., Buglione Neto, C. C., Silva, J. S. d., Seiffert, W. Q., . . . Vinatea, L. A. (2016). Use of probiotic-supplemented diet on a Pacific white shrimp farm. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(5), 203-207.
- Villacís, D. (2023). *Evaluación de tres probióticos frente a bacterias patógenas en tanques de producción de post larvas Litopenaeus vannamei en wanbri s.a. Guayaquil: Tesis de grado.*
- 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>
- 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>
- Zambrano, L. (2022). *EE. UU. compró más camarón y Ecuador es el líder del sector.* Expreso: <https://www.expreso.ec/actualidad/economia/euu-compro-camaron-ecuador-lider-sector-119482.html>
- Zhao, Y., Zhang, X. X., Zhao, Z., Duan, C., Chen, H., Wang, M., & Ye, L. (2018). Metagenomic analysis revealed the prevalence of antibiotic resistance genes in the gut and living environment of freshwater shrimp. *Journal of hazardous materials*, 350, 10-18.
- Zheng, X., Duan, Y., Dong, H., & Zhang, J. (2020). The effect of *Lactobacillus plantarum* administration on the intestinal microbiota of whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 526.
- Zhou, J., Fang, W., Yang, X., Zhou, S., Hu, L., Li, X., Qi, X., Su, H., & Xie, L. (2012). A nonluminescent and highly virulent *Vibrio harveyi* strain is associated with “bacterial white tail disease” of *Litopenaeus vannamei*

shrimp. *PLoS ONE*, 7(2), 19,22.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029961>

Zokaeifar, H., Babaei, N., Saad, C., Kamarudin, M., Sijam, K., & Balcazar, J. (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 Immunol*, 36(1), 68-74.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.10.007>

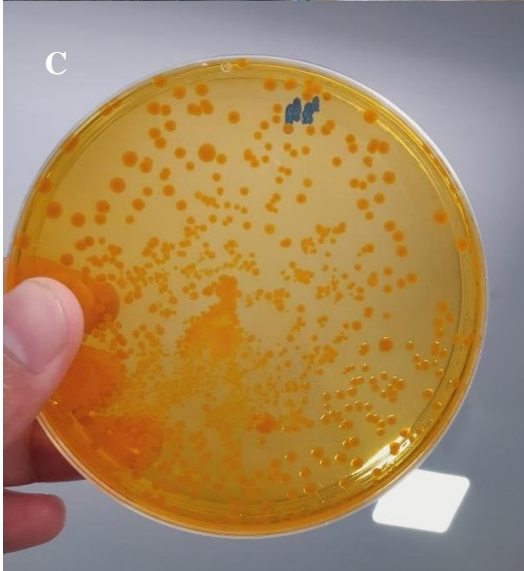
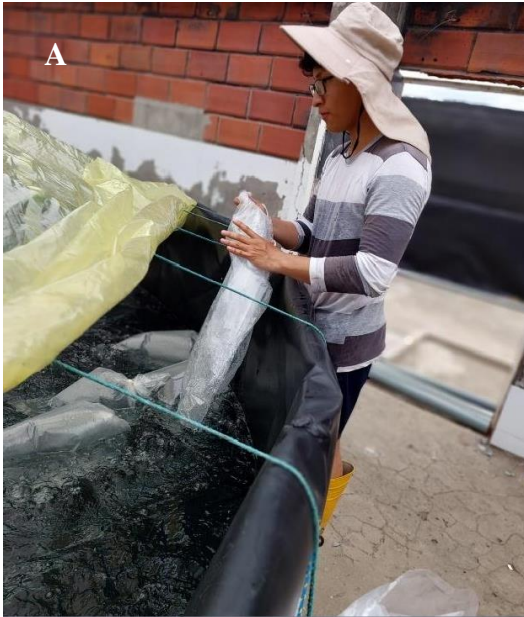
Zorriehzahra, M. (2015). Early Mortality Syndrome (EMS) as new Emerging Threat in Shrimp Industry. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 3(2s), 64-72. <https://doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.2s.64.72>

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.

13. ANEXOS

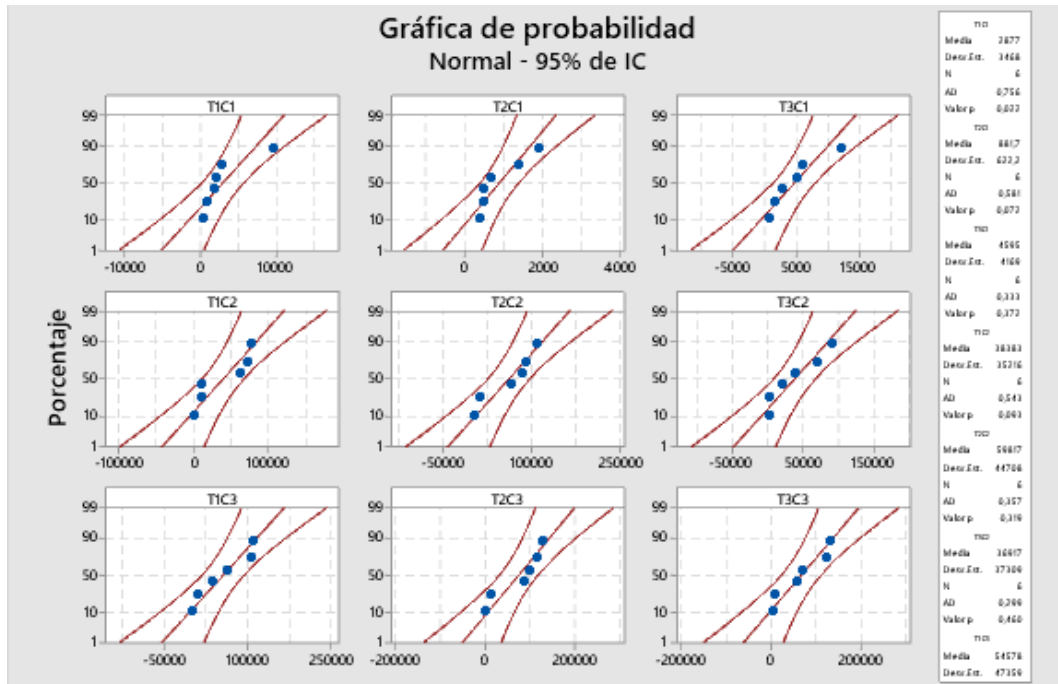
Anexo 1

A) Aclimatación y siembra de Nauplios, B) Análisis microscópico de larvas, C) Conteo de colonias bacterianas, D) Adición de probiótico al alimento



Anexo 2

Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de colonias amarillas



Anexo 3

Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de colonias amarillas

Análisis de Varianza

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-------------|------------|---------|---------|
| Factor | 8 | 38571999115 | 4821499889 | 3,37 | 0,004 |
| Error | 45 | 64386067383 | 1430801497 | | |
| Total | 53 | 1,02958E+11 | | | |

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| <u>Factor</u> | <u>N</u> | <u>Media</u> | <u>Agrupación</u> |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| T2C3 | 6 | 72900 | A |
| T3C3 | 6 | 65113 | A B |
| T2C2 | 6 | 59817 | A B |
| T1C3 | 6 | 54578 | A B |
| T1C2 | 6 | 38383 | A B |
| T3C2 | 6 | 36917 | A B |
| T3C1 | 6 | 4595 | A B |
| T1C1 | 6 | 2877 | A B |
| T2C1 | 6 | 882 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 4

Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de colonias amarillas

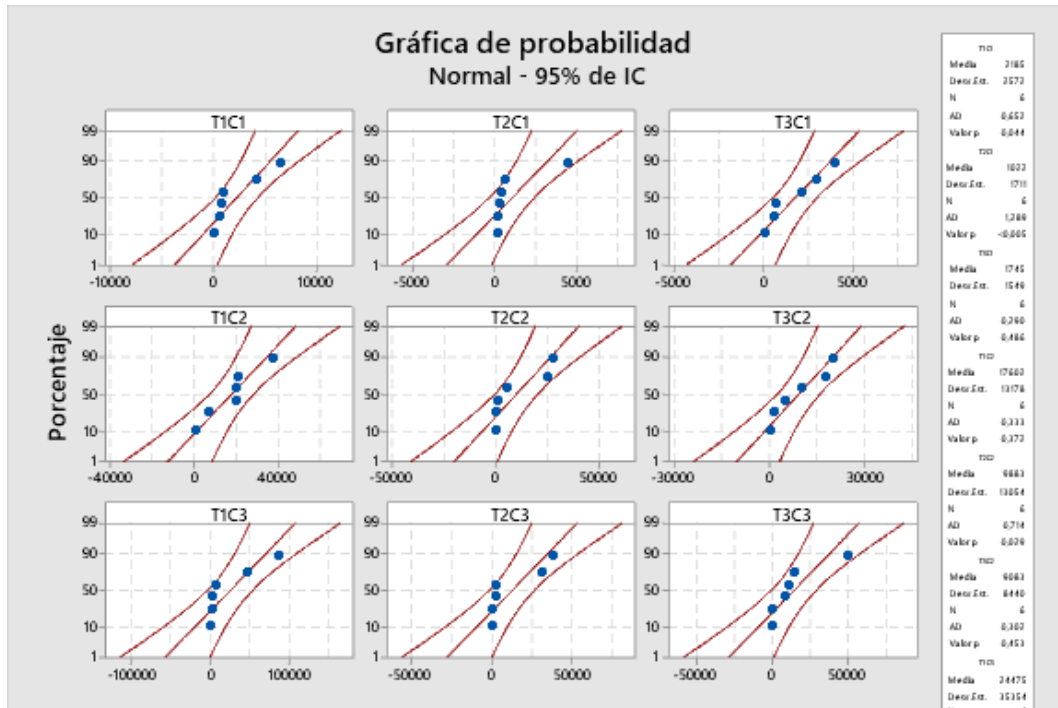
Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

| <u>Factor</u> | <u>N</u> | <u>Media</u> | <u>Agrupación</u> |
|---------------------------|----------|--------------|-------------------|
| Rangos normales (control) | 6 | 100,0 | A |
| T2C3 | 6 | 72900 | |
| T3C3 | 6 | 65113 | |
| T2C2 | 6 | 59817 | |
| T1C3 | 6 | 54578 | A |
| T1C2 | 6 | 38383 | A |
| T3C2 | 6 | 36917 | A |
| T3C1 | 6 | 4595 | A |
| T1C1 | 6 | 2877 | A |
| T2C1 | 6 | 882 | A |

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Anexo 5

Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de colonias verdes



Anexo 6

Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de colonias verdes

Análisis de Varianza

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-------------|-----------|---------|---------|
| Factor | 8 | 2989331759 | 373666470 | 1,45 | 0,203 |
| Error | 45 | 11610418767 | 258009306 | | |
| Total | 53 | 14599750526 | | | |

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor N Media Agrupación

| | | | |
|------|---|-------|---|
| T1C3 | 6 | 24475 | A |
| T1C2 | 6 | 17602 | A |
| T3C3 | 6 | 13945 | A |
| T2C3 | 6 | 12283 | A |
| T2C2 | 6 | 9883 | A |
| T3C2 | 6 | 9083 | A |
| T1C1 | 6 | 2185 | A |
| T3C1 | 6 | 1745 | A |
| T2C1 | 6 | 1022 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 7

Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de colonias verdes

Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

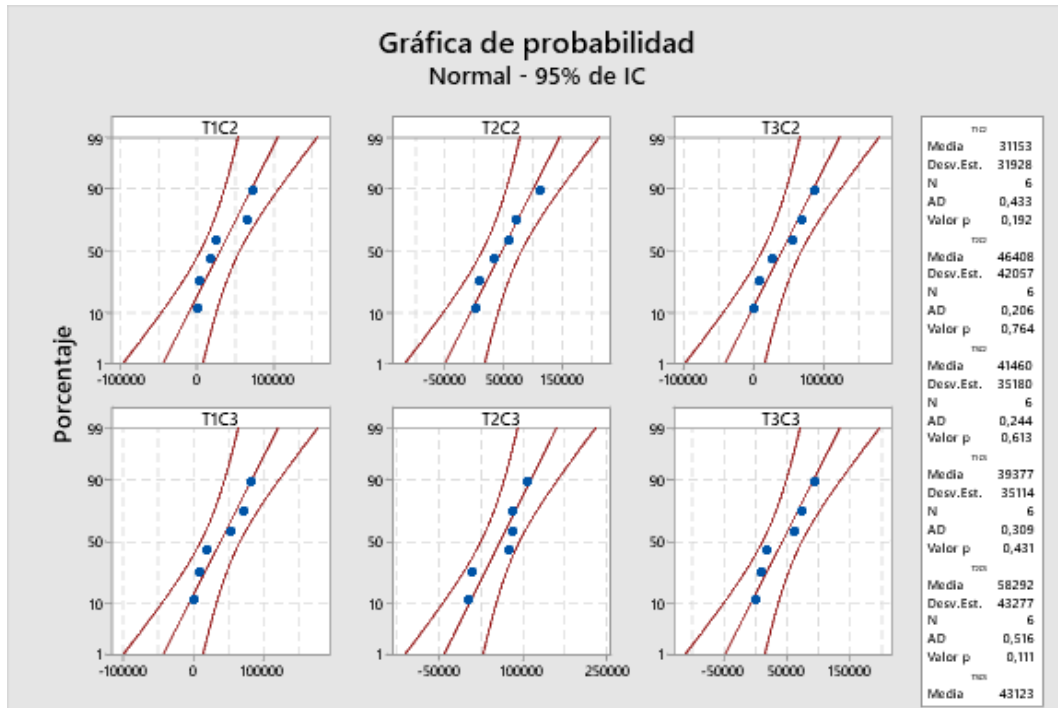
Factor N Media Agrupación

| | | | |
|---------------------------|---|-------|---|
| Rangos normales (control) | 6 | 100,0 | A |
| T1C3 | 6 | 24475 | A |
| T1C2 | 6 | 17602 | A |
| T3C3 | 6 | 13945 | A |
| T2C3 | 6 | 12283 | A |
| T2C2 | 6 | 9883 | A |
| T3C2 | 6 | 9083 | A |
| T1C1 | 6 | 2185 | A |
| T3C1 | 6 | 1745 | A |
| T2C1 | 6 | 1022 | A |

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Anexo 8

Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de V. alginolyticus



Anexo 9

Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de V. alginolyticus

Análisis de Varianza

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-------------|------------|---------|---------|
| Factor | 5 | 2404575856 | 480915171 | 0,33 | 0,889 |
| Error | 30 | 43249822167 | 1441660739 | | |
| Total | 35 | 45654398022 | | | |

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| <u>Factor</u> | <u>N</u> | <u>Media</u> | <u>Agrupación</u> |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
|---------------|----------|--------------|-------------------|

| | | | |
|------|---|-------|---|
| T2C3 | 6 | 58292 | A |
| T2C2 | 6 | 46408 | A |
| T3C3 | 6 | 43123 | A |
| T3C2 | 6 | 41460 | A |
| T1C3 | 6 | 39377 | A |
| T1C2 | 6 | 31153 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 10

Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de V. alginolyticus

Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

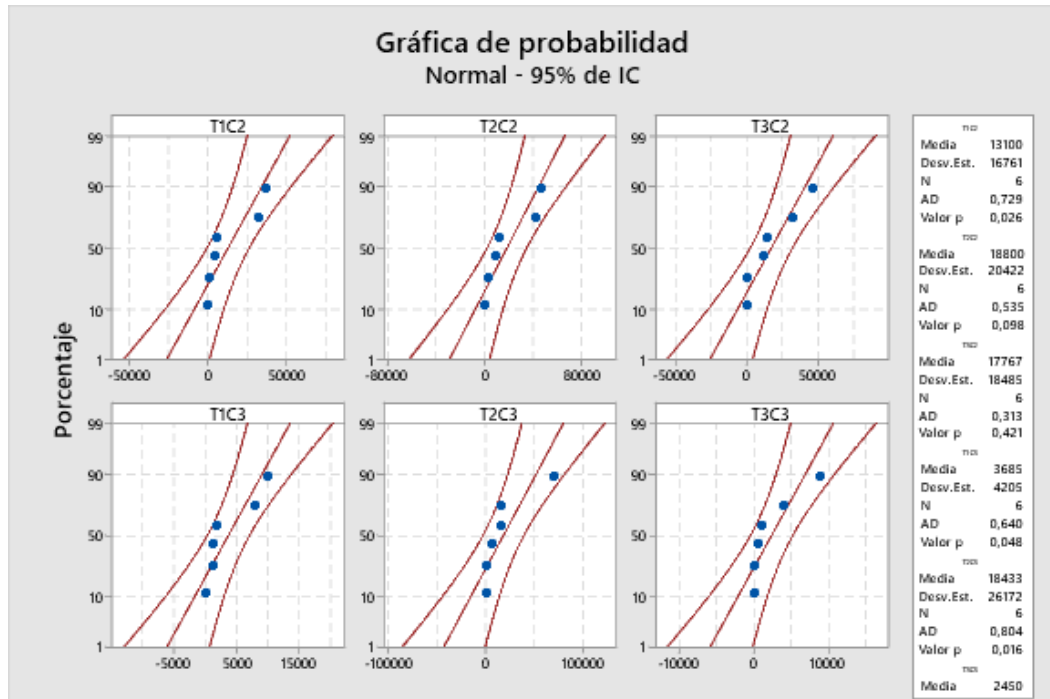
| <u>Factor</u> | <u>N</u> | <u>Media</u> | <u>Agrupación</u> |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
|---------------|----------|--------------|-------------------|

| | | | |
|---------------------------|---|-------|---|
| Rangos normales (control) | 6 | 100,0 | A |
| T2C3 | 6 | 58292 | |
| T2C2 | 6 | 46408 | A |
| T3C3 | 6 | 43123 | A |
| T3C2 | 6 | 41460 | A |
| T1C3 | 6 | 39377 | A |
| T1C2 | 6 | 31153 | A |

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Anexo 11

Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de *V. vulnificus*



Anexo 12

Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de *V. vulnificus*

Análisis de Varianza

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-------------|-----------|---------|---------|
| Factor | 5 | 1689608458 | 337921692 | 1,16 | 0,354 |
| Error | 30 | 8773836417 | 292461214 | | |
| Total | 35 | 10463444875 | | | |

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Factor | N | Media | Agrupación |
|--------|---|-------|------------|
| T2C2 | 6 | 18800 | A |
| T2C3 | 6 | 18433 | A |
| T3C2 | 6 | 17767 | A |
| T1C2 | 6 | 13100 | A |
| T1C3 | 6 | 3685 | A |
| T3C3 | 6 | 2450 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 13

Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de *V. vulnificus*

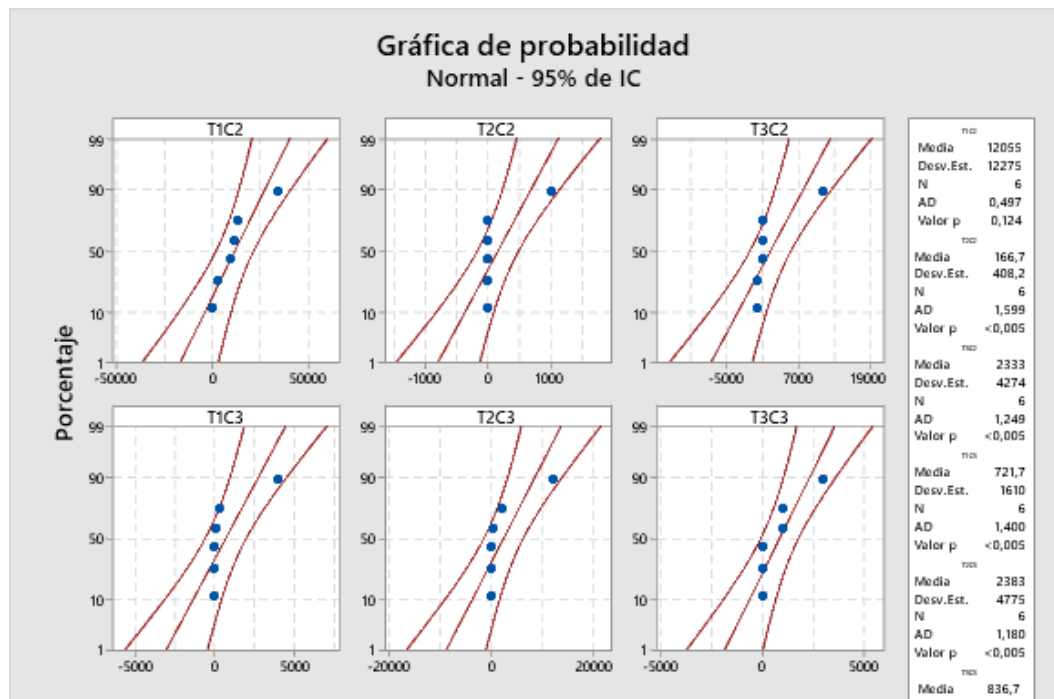
Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

| Factor | N | Media Agrupación |
|---------------------------|---|------------------|
| Rangos normales (control) | 6 | 10,00 A |
| T2C2 | 6 | 18800 A |
| T2C3 | 6 | 18433 A |
| T3C2 | 6 | 17767 A |
| T1C2 | 6 | 13100 A |
| T1C3 | 6 | 3685 A |
| T3C3 | 6 | 2450 A |

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Anexo 14

Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de *V. parahaemolyticus*



Anexo 15

Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de *V. parahaemolyticus*

Análisis de Varianza

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|------------|-----------|---------|---------|
| Factor | 5 | 604051356 | 120810271 | 3,70 | 0,010 |
| Error | 30 | 979260167 | 32642006 | | |
| Total | 35 | 1583311522 | | | |

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Factor | N | Media | Agrupación |
|--------|---|-------|------------|
| T1C2 | 6 | 12055 | A |
| T2C3 | 6 | 2383 | A B |
| T3C2 | 6 | 2333 | A B |
| T3C3 | 6 | 837 | B |
| T1C3 | 6 | 722 | B |
| T2C2 | 6 | 167 | B |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 16

Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de *V. parahaemolyticus*

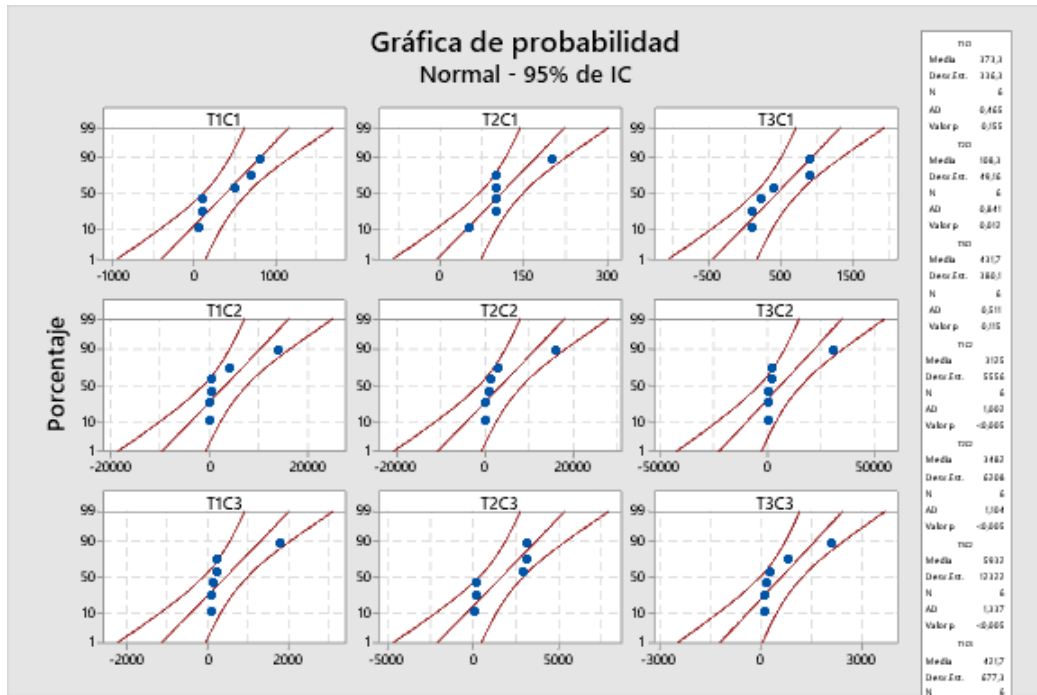
Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

| Factor | N | Media | Agrupación |
|---------------------------|---|-------|------------|
| Rangos normales (control) | 6 | 10,00 | A |
| T1C2 | 6 | 12055 | |
| T2C3 | 6 | 2383 | A |
| T3C2 | 6 | 2333 | A |
| T3C3 | 6 | 837 | A |
| T1C3 | 6 | 722 | A |
| T2C2 | 6 | 167 | A |

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Anexo 17

Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de Pseudomonas



Anexo 18

Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de Pseudomonas

Análisis de Varianza

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|------------|-----------|---------|---------|
| Factor | 8 | 190870904 | 23858863 | 0,95 | 0,483 |
| Error | 45 | 1125781200 | 25017360 | | |
| Total | 53 | 1316652104 | | | |

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| <u>Factor</u> | <u>N</u> | <u>Media</u> | <u>Agrupación</u> |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| T3C2 | 6 | 5932 | A |
| T2C2 | 6 | 3482 | A |
| T1C2 | 6 | 3125 | A |
| T2C3 | 6 | 1605 | A |
| T3C3 | 6 | 595 | A |
| T3C1 | 6 | 432 | A |
| T1C3 | 6 | 422 | A |
| T1C1 | 6 | 373 | A |
| T2C1 | 6 | 108,3 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 19

Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de Pseudomonas

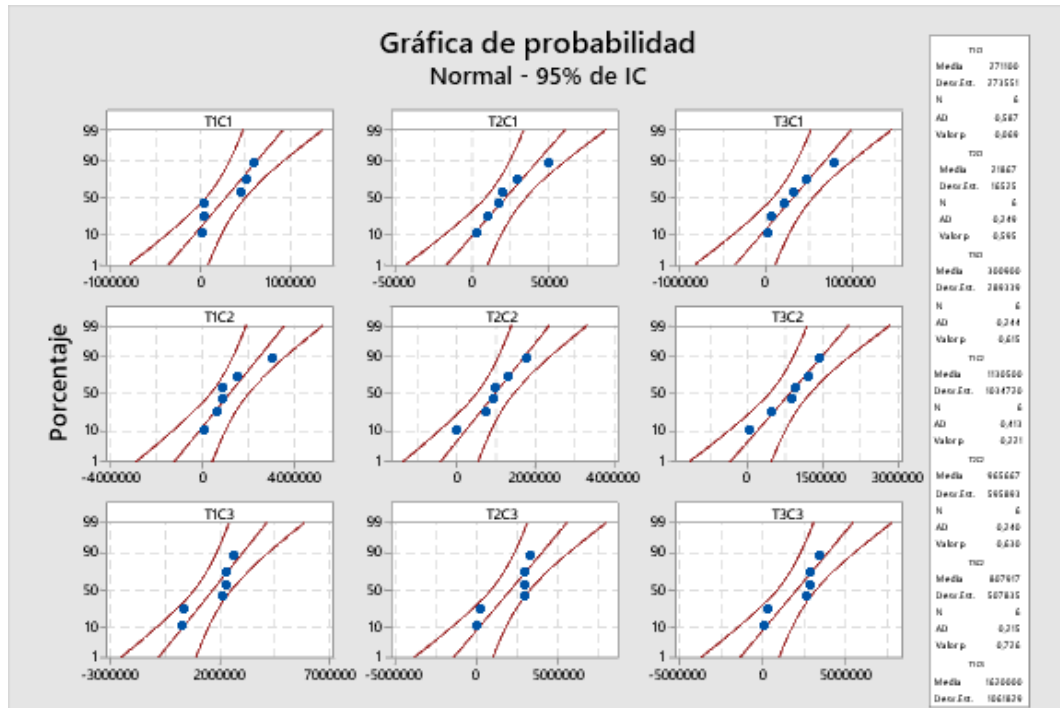
Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

| <u>Factor</u> | <u>N</u> | <u>Media</u> | <u>Agrupación</u> |
|---------------------------|----------|--------------|-------------------|
| Rangos normales (control) | 6 | 100,0 | A |
| T3C2 | 6 | 5932 | A |
| T2C2 | 6 | 3482 | A |
| T1C2 | 6 | 3125 | A |
| T2C3 | 6 | 1605 | A |
| T3C3 | 6 | 595 | A |
| T3C1 | 6 | 432 | A |
| T1C3 | 6 | 422 | A |
| T1C1 | 6 | 373 | A |
| T2C1 | 6 | 108,3 | A |

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Anexo 20

Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de Bacterias totales



Anexo 21

Análisis por método Tukey de los datos de carga bacteriana de Bacterias totales

Análisis de Varianza

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-------------|-------------|---------|---------|
| Factor | 8 | 2,67236E+13 | 3,34045E+12 | 4,10 | 0,001 |
| Error | 45 | 3,66935E+13 | 8,15411E+11 | | |
| Total | 53 | 6,34171E+13 | | | |

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Factor | N | Media | Agrupación |
|--------|---|---------|------------|
| T2C3 | 6 | 2058000 | A |
| T3C3 | 6 | 1959333 | A B |
| T1C3 | 6 | 1620000 | A B C |
| T1C2 | 6 | 1130500 | A B C |
| T2C2 | 6 | 965667 | A B C |
| T3C2 | 6 | 807917 | A B C |
| T3C1 | 6 | 300900 | B C |
| T1C1 | 6 | 271100 | B C |
| T2C1 | 6 | 21867 | C |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 22

Análisis por método Dunnett de los datos de carga bacteriana de Bacterias totales

Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

| Factor | N | Media | Agrupación |
|---------------------------|---|---------|------------|
| Rangos normales (control) | 6 | 10000 | A |
| T2C3 | 6 | 2058000 | |
| T3C3 | 6 | 1959333 | |
| T1C3 | 6 | 1620000 | |
| T1C2 | 6 | 1130500 | A |
| T2C2 | 6 | 965667 | A |
| T3C2 | 6 | 807917 | A |
| T3C1 | 6 | 300900 | A |
| T1C1 | 6 | 271100 | A |
| T2C1 | 6 | 21867 | A |

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

Anexo 23

Análisis por método Tukey de los datos de supervivencia

Análisis de Varianza

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-----------|-----------|---------|---------|
| Factor | 2 | 8,255 | 4,127 | 0,03 | 0,973 |
| Error | 6 | 916,206 | 152,701 | | |
| Total | 8 | 924,461 | | | |

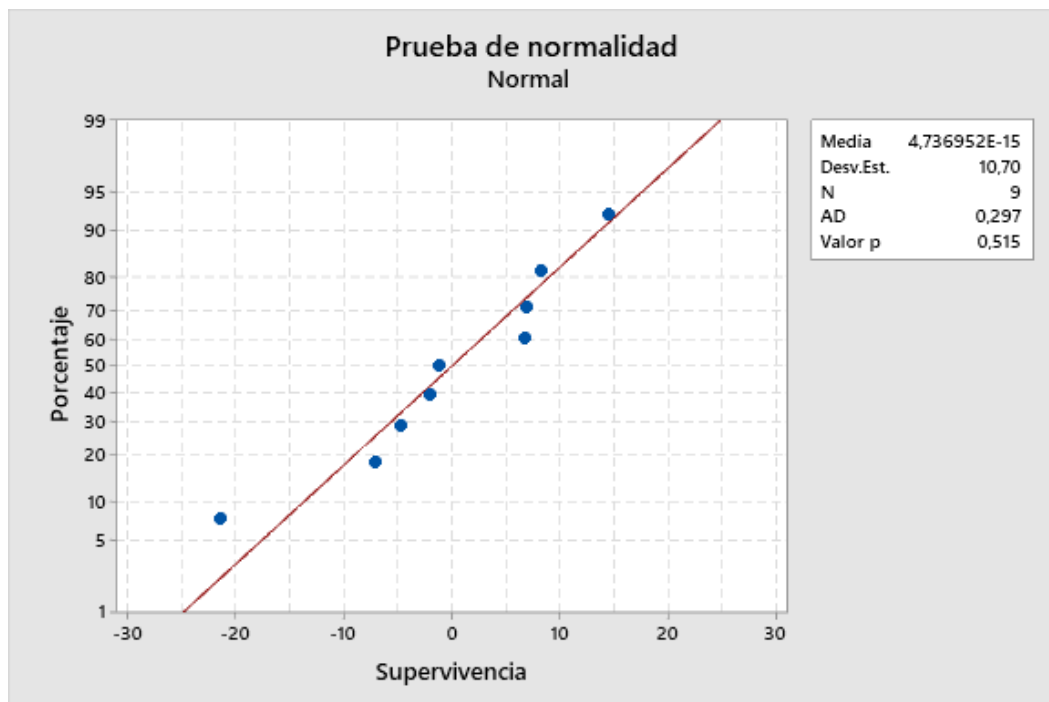
Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Factor | N | Media | Agrupación |
|--------------|---|-------|------------|
| Tratamiento3 | 3 | 60,7 | A |
| Tratamiento1 | 3 | 59,41 | A |
| Tratamiento2 | 3 | 58,33 | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 24

Prueba de normalidad Anderson – Darling aplicada a los resultados de supervivencia



Anexo 25

Prueba de igualdad de varianzas de Levene de los datos de supervivencia de los tratamientos

