



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

Evaluación de la eficiencia de 3 probióticos comerciales como controladores de bacterias patógenas en tanques de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vanammei*) en un laboratorio de producción de larvas de camarón en Mar Bravo – Ecuador.

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

AUTORA:

VIVIANA MIOSOTTYS LOZA BÁEZ

TUTOR:

ING. JIMMY VILLÓN, M.SC.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2023

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

Evaluación de la eficiencia de 3 probióticos comerciales como controladores de bacterias patógenas en tanques de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vanammei*) en un laboratorio de producción de larvas de camarón en Mar Bravo – Ecuador.

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

AUTORA:

VIVIANA MIOSOTTYS LOZA BÁEZ

TUTOR:

ING. JIMMY VILLÓN, M.SC.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2023

UPSE

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “Evaluación de la eficiencia de 3 probióticos comerciales como controladores de bacterias patógenas en tanques de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vanammei*) en un laboratorio de producción de larvas de camarón en Mar Bravo – Ecuador..”, elaborado por VIVIANA MIOSOTTYS LOZA BÁEZ, 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/a, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este 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



Ing. Jimmy Villón Moreno, MSc.

DOCENTE TUTOR

C.I 0913270153

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “Evaluación de la eficiencia de 3 probióticos comerciales como controladores de bacterias patógenas en tanques de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en un laboratorio de producción de larvas de camarón en Mar Bravo – Ecuador”, elaborado por Viviana Miosottys Loza Báez, 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 Bióloga, 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



Blgo. William Santos Sánchez, M.Sc

DOCENTE DE ÁREA

C.I. 2400216459

DEDICATORIA

Con profunda gratitud, dedico esta tesis principalmente a Dios y a mi amado esposo Anthony De La Cruz ya que ha sido un pilar principal para la culminación de la misma por su apoyo incondicional, por su confianza y su amor inagotable.

A mi hijo Zaid por ser mi fuente de motivación para poder superarme cada día más donde la mayoría de sus veces tuvo que ser un niño independiente y comprensivo.

A mi madre por ser mi consejera, por ser mi sol en mis días nublados. Le dedico este logro haberme enseñado con ejemplos que los sueños se cumplen sin importar la edad o las circunstancias.

A mi padre por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; este logro se lo debo a él, ya que mientras él trabajaba día - noche para darnos lo mejor y sacrificaba muchos días especiales como navidad, fin de años, y cumpleaños hoy puede ver como su única hija se gradúa y le dice GRACIAS.

Viviana Miosottys Loza Báez

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por permitir llegar hasta donde estoy ahora, brindándome sabiduría y fortaleza de seguir adelante.

A la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), junto a la Facultad Ciencias del Mar, por la paciencia y enseñanza durante estos años de estudios.

A mi Tutor Ing. Jimmy Villón Moreno M.Sc a quien debo agradecerle por haber sido un pilar fundamental en esta etapa, que, con su experiencia, buenos consejos podré cerrar el ciclo profesional.

Al Lcdo. Pascual Roca donde siempre está pendiente de cada uno de los estudiantes, brindándonos también su paciencia para poder culminar el trabajo de integración curricular II.

A la empresa SANLAB S.A. donde realicé mi proyecto de tesis y que además conocí a dos grandes personas que muy aparte de lo laboral se estableció una linda amistad. Agradecida con el Adm. **Cristhian Navarro** por su paciencia y enseñanza a lo largo de esos meses y por supuesto también al técnico principal **Richard Alejandro** por brindarme su extraordinario conocimiento además de su tiempo y dedicación.

A mi grupo de amigos RONREY; PAOLA; MILTÓN; ANTHONY donde todos los fines de semana nos reunimos a conversar de la vida, del día a día, donde siempre sales buenos consejos y todo nos parece buena idea. A MARY donde es la única que dice que no es saludable tomar.

Y por último, pero no menos importante a mí VIVIANA MIOSOTTYS LOZA BÁEZ ya que la mayoría de veces yo misma me saboteaba, tenía malos momentos, inseguridades, y muchas veces ansiedad pude culminar unas de las metras de mi vida.

TRIBUNAL DE GRADO

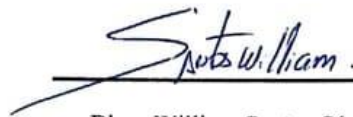
Trabajo de Integración Curricular presentado por Viviana Miosottys Loza Báez como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el:



Ing. Jimmy Villon Moreno M.Sc.

**DIRECTOR/A DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



Blgo. William Santos Sánchez M.Sc.

**PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Ing. Jimmy Villon Moreno M.Sc.

**DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Blgo Richard Duque Marín M.Sc.

**DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

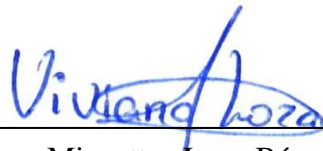


Ledo. Pascual Roca Silvestre M.Sc.

SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

Yo, **VIVIANA MIOSOTYS LOZA BÁEZ** declaro bajo juramento que el contenido, criterio y análisis de resultados en este estudio de investigación con tema: **“Evaluación de la eficiencia de 3 probióticos comerciales como controladores de bacterias patógenas en tanques de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vanammei*) en un laboratorio de producción de larvas de camarón en Mar Bravo – Ecuador.”**, me concierne exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma compartido con la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), determinando por la legislación de propiedad intelectual, sus disposiciones reglamentarias y las normativas intelectuales vigentes.



Viviana Miosottys Loza Báez

C.I. 0957932767

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	18
2. PROBLEMÁTICA.....	21
3. JUSTIFICACIÓN	23
4. OBJETIVOS	25
4.1. Objetivo general.....	25
4.2. Objetivos específicos.....	25
5. HIPÓTESIS.....	26
6. MARCO TEÓRICO.....	27
6.1. Clasificación taxonómica del Camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	27
6.2. Generalidades.....	28
6.3. Distribución.....	29
6.4. Hábitat.....	29
6.5. Alimentación.....	29
6.6. Reproducción	29
6.7. Ciclo de vida	30
6.8. Estadios larvarios	30
6.9. Cultivo de larvas de camarón.....	32
6.10. Patógenos que amenazan los cultivos de camarón blanco.....	32

6.11.	Probióticos	33
6.12.	Agares	35
7.	MARCO METODOLÓGICO	43
7.1.	ÁREA DE ESTUDIO.	43
7.2.	FASE DE CAMPO.	44
7.2.1.	Cultivo de larvas.	44
7.2.2.	Registro de parámetros.....	45
7.2.3.	Alimentación.....	45
7.2.4.	Aplicación de probióticos.	46
7.2.5.	Selección de muestras	47
7.3.	FASE DE LABORATORIO	47
7.3.1.	Medios de cultivo.....	47
7.3.2.	Técnica de siembra en Agar.....	48
7.3.3.	Conteo de colonias.....	49
8.	ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.....	51
9.	DISCUSIÓN	74
10.	CONCLUSIONES	76
11.	RECOMENDACIONES	77
12.	Bibliografía	78
13.	ANEXOS	88

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Ejemplar perteneciente a la especie de camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	27
Figura 2. Estadios larvales del camarón.....	31
Figura 3. Bacterias heterótrofas en agar marino.....	36
Figura 4. UFC presentes en agar cetrímide.....	37
Figura 5. Colonias de vibrios presentes en Agar TCBS.....	38
Figura 6. Hongos presentes en Agar Sabouraud.....	39
Figura 7. Bacterias pertenecientes al género <i>Vibrio</i> desarrolladas en CHROMagar.....	41
Figura 8. UFC pertenecientes a <i>Lactobacillus</i> en agar MRS.....	42
Figura 9. Mapa identificativo del sitio de estudio, Laboratorio SANLAB S.A. Cantón Salinas, provincia de Santa Elena.....	43
Figura 10. Medios de cultivos comerciales utilizados (A: Agar Sabouraud, B: Cetrímide, C: Agar MRS, D: Agar marino, E: Agar TCBS, F: Agar Chromoagar).	51
Figura 11. Comparación de las medianas de las UFC totales por ciclo contabilizadas entre los 6 medios de cultivos utilizados.....	53
Figura 12. Comparación de los tratamientos por ciclo de producción.....	54
Figura 13. Figura x. (a) Análisis de las cantidades de UFC obtenidas en los diferentes agares utilizados. A-M=agar marino; A-TCBS= agar TCBS; A-CH=	

Agar Chromoagar; A-CT= Agar Cetrimide; A-SB= Agar Sauboraud y A-MRS=	
Agar MRS.	55
Figura 14. Comparación de las UFC por tratamientos entre los ciclos de producción.....	57
Figura 15. Comparación de las medianas de UFC presentes en agar marino por ciclo de producción	58
Figura 16. Comparación de las UFC registradas en agar TCBS por tratamientos y ciclos de producción.....	59
Figura 17. Comparación de las medianas de UFC presentes en agar TCBS por ciclo de producción	60
Figura 18. Comparación de las UFC registradas en Chromoagar por tratamientos y ciclos de producción.....	62
Figura 19. Comparación de UFC presentes en Chromoagar por ciclo de producción.....	63
Figura 20. Comparación de las UFC registradas en Chromoagar por tratamientos y ciclos de producción.....	65
Figura 21. Comparación de las medianas de UFC de pseudomonas, hongos y levaduras por ciclo de producción	66
Figura 22. Relación lineal Salinidad vs Concentración total de vibrios	68
Figura 23. Relación lineal temperatura vs Concentración total de vibrios	69
Figura 24. Relación lineal pH vs Concentración total de vibrios.....	69
Figura 25. Agares usados como medio de cultivo.....	88
Figura 27. Siembra de muestras	88

Figura 26. Cajas petri con los diferentes medios de cultivo.....	88
Figura 29. Control de muestras sembradas.	89
Figura 28. Conteo de UFC mediante aplicacion del Probiotico control	89
Figura 30. Conteo y caracterizacion de UFC mediante aplicacion del probiotico B	89
Figura 31. Conteo de UFC mediante de aplicación del probiótico A	89
Figura 32. Microscopio y micropipetas.....	89
Figura 33: conteo de colonias en los diferentes cultivos de agar.....	89
Figura 34: Muestras recolectadas en fundas de plásticas para el análisis microbiológico.....	89
Figura 35: cocción del Chromagar.....	89
Figura 36: Dia de cosecha.....	90
Figura 37: Día d siembra.....	90
Figura 38: Esterilización de materiales e incubación.....	90
Figura 39: Conteos de colonias.....	90

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Características presentes en colonias sembradas en agar cetrimide...	37
Tabla 2. Características presentes en colonias sembradas en agar TCBS.....	38
Tabla 3. Coloración característica de colonias en Agar Saboraud	39
Tabla 4. Caracterización fenotípica de bacterias del género vibrio	40
Tabla 5. Grados de severidad de UFC en larvas y postlarvas de camarón de acuerdo al protocolo establecido por laboratorios SANLAB S.A	50
Tabla 6. Resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos del agua durante el estudio	67
Tabla 7. Resumen estadístico de la correlación de Spearman entre los parámetros fisicoquímicos y la concentración de vibrios totales.....	67
Tabla 8. Biomasa obtenida referente a los ciclos de producción por tratamientos	70
Tabla 9. Supervivencia final obtenida referente a los ciclos de producción por tratamientos	71
Tabla 10. Factor de conversión alimenticia referente a los ciclos de producción por tratamientos.....	72
Tabla 11. PL/G final obtenido referente a los ciclos de producción por tratamientos	73
Tabla 12. Recuento de unidades formadoras de colonias bacterianas en los diferentes medios de cultivo sembrados.	92

GLOSARIO

Acuacultura: actividad consistente en la producción de organismos acuáticos de agua dulce o salada

Efluentes: aguas residuales provenientes del cultivo de larvas de camarón que contienen restos de heces y comida no consumida.

Antibiótico: medicamentos combatientes de enfermedades causadas por bacterias que actúan matando a las bacterias o inhibiendo su crecimiento y multiplicación.

Antagonismo: Tipo de relación entre sustancias u organismos en que uno neutraliza, bloquea o inhibe la actividad del otro

Microbiota: es la gama de microorganismos que pueden ser comensales, simbióticos o patógenos que se encuentran en y sobre todos los organismos multicelulares, incluidas las plantas.

Patógenos: es cualquier microorganismo capaz de producir alguna enfermedad o daño en un huésped, sea animal o vegetal.

Postlarvas: estadio del ciclo biológico del camarón marino, alcanzado después de haber evolucionado, a través de los diferentes estadios larvales. Es en este cuando logra crecer a un tamaño de 7 a 12 mm, para ser utilizado en el cultivo en estanques de producción de las fincas.

Probiótico: microorganismos vivos (como bacterias y levaduras) que al consumirlos proporcionan beneficios para la salud.

ABREVIATURAS

M: Mysis

PL: PostLarva

Z: Zoea

G: gramos

PL/G: Pelegramo

L: litros

ml: mililitros

ppm: partes por millón

Tn: toneladas

Tq: tanques

UFC: Unidades formadoras de colonias

Evaluación de la eficiencia de tres probióticos comerciales como controladores de bacterias patógenas en tanques de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vanammei*) en un laboratorio de producción de larvas de camarón en Mar Bravo – Ecuador.

Autora: Viviana Miosottys Loza Báez
Tutor: Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc.

RESUMEN

La acuicultura en el Ecuador es una de las principales fuentes generadoras de alimento, sin embargo, el mantenimiento de los cultivos de larvas de camarón se complica debido a la presencia de diferentes patógenos que aparecen a lo largo de su estancia en los laboratorios. Por esta razón, el uso de los probióticos cobra total relevancia al momento de mencionar el adecuado mantenimiento de los cultivos de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), estas sustancias ayudan a mantener la salud animal, evitar infecciones y mejora la calidad de agua entre otros beneficios, por esta razón el presente trabajo se centró en comparar la eficiencia de los probióticos comerciales mediante un control bacteriano durante la producción larval determinando los efectos positivos. El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio Sanlab S.A. donde se procedió a administrar 3 probióticos comerciales diferentes dosificados en cantidades iguales en los estadios larvarios desde Zoea a PostLarva 9, asimismo mediante la siembra en agar selectivo del macerado de muestras se realizó un análisis visual de UFC conseguidas. Los resultados obtenidos después de las pruebas realizadas indican que los tres probióticos utilizados presentan diferencias significativas en cuanto a inhibición de patógenos en los diferentes tratamientos utilizados, siendo el probiótico A y el tratamiento control los que obtuvieron un mayor rango de protección, por lo que se concluye que tanto el tratamiento control como el probiótico A posee un mejor control bacteriano, asimismo, los recuentos en agar marino con las UFC cremas y naranjas, fueron significativamente mayores a los recuentos realizados en los otros tipos de agares en ambos ciclos productivos.

Palabras clave: *probiótico, UFC, bacterias, agar*

ABSTRACT

Aquaculture in Ecuador is one of the main sources of food, however, the maintenance of shrimp larvae cultures is complicated due to the presence of different pathogens that appear throughout their stay in the laboratories. For this reason, the use of probiotics becomes totally relevant when mentioning the proper maintenance of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae cultures. These substances help maintain animal health, avoid infections and improve water quality among other benefits, for this reason the present work focused on comparing the efficiency of commercial probiotics through bacterial control during larval production, determining the positive effects. The study was carried out at the Sanlab S.A. laboratory facilities. where 3 different commercial probiotics dosed in equal quantities were administered in the larval stages from Zoea to PostLarva 9, also by sowing the macerated samples on selective agar, a visual analysis of the CFU achieved was carried out. The results obtained after the tests carried out indicate that the three probiotics used present significant differences in terms of pathogen inhibition in the different treatments used, with probiotic A and the control treatment being the ones that obtained a higher range of protection, therefore concludes that both the control treatment and probiotic A have better bacterial control; likewise, the counts in marine agar with the cream and orange CFU were significantly higher than the counts carried out in the other types of agar in both production cycles.

Key words: *probiotic, CFU, bacteria, agar*

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura en el Ecuador es una de las principales fuentes generadoras de alimento; el 95% de esta actividad se dedica a la producción de camarón marino (*Litopenaeus vannamei*) (FAO, 2024). El cultivo del camarón blanco es esencial para la economía ecuatoriana, siendo el primer producto de mayor ingreso y manteniendo su liderazgo como principal productor latinoamericano de camarón, con crecimiento constante en la producción (Mora & Nuñez, 2020); (Trujillo et al., 2017). En este contexto, la provincia de Santa Elena constituye el núcleo de la producción de larvas de camarón en el país, concentrando gran parte de la actividad acuícola nacional (Argudo, 2023).

Sin embargo, el mantenimiento de los cultivos se torna problemático al momento de lidiar con los efluentes disueltos y suspendidos que causan impacto ambiental (Boyd, 2003), además de los daños que estos puedan causar a los organismos cultivados. La alta demanda de postlarvas para la industria camaronera y consecuentemente la intensificación a nivel de criadero también ha contribuido al aumento de patógenos infecciosos durante esta fase de producción (Rodgers et al., 2011). En Ecuador, una de las principales preocupaciones en los laboratorios de producción de larvas de camarón son los patógenos bacterianos del género vibrio.

El amplio uso de antibióticos como prevención contra patógenos en la acuicultura genera desafíos, como residuos en productos acuícolas y la resistencia de patógenos, conduciendo a regulaciones más estrictas y promoviendo la investigación de alternativas naturales y amigables para el medio ambiente y para el control de patógenos en criaderos de camarón (Sotomayor et al., 2019), por esta razón la industria acuícola, en la necesidad de adoptar estrategias alternativas para sustituir los antibióticos en los criaderos de camarón, ha llegado a investigar el uso de productos naturales como los probióticos para el control de patógenos (Hasyimi et al., 2020).

Los probióticos, son microorganismos vivos que, en cantidades adecuadas, brindan beneficios para la salud del camarón (Olmos Soto, 2021). La administración de probióticos es una de las estrategias alternativas al uso de antibióticos y quimioterapéuticos que actualmente se utilizan en la acuicultura. Los probióticos resultan ser una alternativa viable ya que sus beneficios incluyen el potencial de colonización en el tracto gastrointestinal, antagonismo selectivo contra patógenos bacterianos, mejora del sistema inmunológico de los camarones, mayor crecimiento y supervivencia, degradación de los detritos y mantenimiento de la calidad del agua (Gullian et al., 2004); (Peñalosa-Martinell et al., 2021); (Verschuere et al., 2000). Varios estudios han demostrado que el uso de mezclas probióticas es más efectivo que las cepas independientes en el control de patógenos, ya que la posibilidad de establecer poblaciones probióticas a pesar de las

variaciones ambientales es mayor. Además, se han observado procesos sinérgicos entre cepas, que han incrementado los resultados deseados (Douillet, 1993).

Asimismo, la información disponible indica que las bacterias aisladas de animales cultivados tienen mayor capacidad de adhesión a la mucosa gastrointestinal y a los tejidos en comparación con bacterias foráneas. Por ese motivo, los efectos de muchos probióticos suelen ser de corta duración y deben administrarse de manera continua, ya sea como suplemento en la alimentación o a través del agua de cultivo para mantener sus efectos biológicos, a menos que sean desarrollados a partir de cepas aisladas del propio ecosistema acuático (Moreira & Méndez, 2024) .

De esta manera, en este estudio se tuvo como objetivo comparar la eficacia de dos probióticos comerciales, para probar una alternativa y sugerir la mejora en el rendimiento en la producción de larvas de *L. vannamei* frente a las bacterias patógenas, que son las principales causantes de mortalidad.

2. PROBLEMÁTICA

El desarrollo de un sistema de cultivo intensivo de larvas de camarón para satisfacer la alta demanda de producción muchas veces tiene efectos negativos (Fernandes & Kerkar, 2019). Durante el ciclo de producción se suelen presentar variaciones en el equilibrio ambiental del medio (Vidal et al., 2018), provocando disminuciones en el crecimiento y el tamaño individual en la cosecha, reduce la calidad del agua, aumenta el estrés y disminuye la tasa de supervivencia a medida que aumentan los niveles de infecciones bacterianas y virales (Hasyimi et al., 2020).

Para garantizar la sobrevivencia de los organismos se debe considerar el modo de actuar frente a los diferentes patógenos que estén presentes en el medio, su evolución, así como la cantidad de concentración que estos presenten, ya que de estas características dependen el grado de infestación y tratamiento a usar (Gao et al., 2017).

Una de las principales preocupaciones en los criaderos de camarones son los patógenos bacterianos Gram-negativas, en especial el género vibrio, incluyendo enfermedades como el síndrome de Bolitas nigricans causado por *V. harveyi* y el síndrome de Zoea 2 ocasionado por *V. harveyi* y *V. alginolyticus* (Mora & Nuñez, 2020); (Sotomayor et al., 2019)

Los fármacos mal utilizados para los tratamientos de estas enfermedades en el cultivo de camarón generan residuos en el individuo y en el ambiente, provocando resistencia y bajan la calidad del producto antes de ser comercializado (Gothwal & Shashidhar, 2015).

Ante esto, los probióticos emergen como una alternativa efectiva y sostenible para combatir infecciones y promover una producción más orgánica. Por otro lado, existe una controversia relacionada con la efectividad de ciertos productos probióticos debido a su limitada o nula capacidad para resolver los problemas para los cuales se destinaron (Raja et al., 2015). Por consiguiente, resulta fundamental evaluar la eficacia de probióticos comerciales en tanques de cultivos, ya que la incorporación de probióticos efectivos aumenta las probabilidades de una mejora en la producción de larvicultura de camarón.

3. JUSTIFICACIÓN

Los cultivos de camarón siempre corren diferentes tipos de riesgos durante su cultivo (Eraz, 2020), al tratarse de un producto alimenticio, es necesario el control correcto durante todas las fases de producción para así garantizar un producto de buena calidad a los consumidores.

La presencia de varios agentes patógenos causantes de diversas infecciones que alteran la productividad ha provocado el avance en creación e innovación de métodos preventivos de control para poder contrarrestar el problema de estas enfermedades, siendo uno de estos el uso de probióticos (Gao et al., 2017).

Los probióticos han ido ganando aceptación dentro de la industria camaronera gracias a los múltiples beneficios que estos brindan dentro de un cultivo, ayudando a mantener calidad de agua por mayor tiempo, aumenta el crecimiento de los individuos y siendo amigable con el medio ambiente (Valdes et al., 2013).

Esta investigación permitirá evaluar cuál de los dos productos comerciales a usar brinda un mejor rendimiento en la producción en tanques de cultivo de larvas de camarón. De esta manera, permitirá examinar y comparar la respuesta

inmunológica de ambos probióticos en diferentes estadios del ciclo de cultivo. Además, este estudio no solo contribuirá al sector acuícola nacional proporcionando información específica sobre la acción y la eficiencia de los tratamientos orgánicos frente a las poblaciones de patógenos en *L. vannamei*, sino que también fomentará la reducción de pérdidas económicas debido a mortalidades ocasionadas por enfermedades.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general.

Comparar la eficiencia de los probióticos comerciales mediante un control bacteriano durante la producción larval determinando los efectos positivos.

4.2. Objetivos específicos.

1. Identificar las colonias de bacterias patógenas mediante el uso de agares en las diferentes fases de cultivo, desde la siembra hasta la cosecha.
2. Evaluar la variabilidad en la concentración total de vibrios durante el cultivo larval.
3. Relacionar los parámetros físicos - Químicos del cultivo con la concentración total de vibrios determinando si existe una influencia directa a través de una correlación.

5. HIPÓTESIS

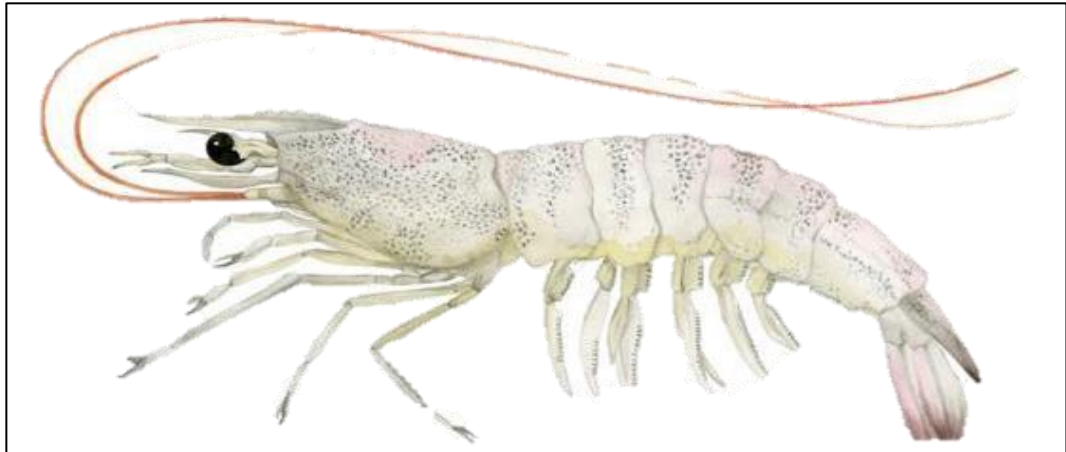
H₀: Los probióticos en estudio no reducen la incidencia de bacterias patógenas que afectan la producción de larvas de camarón.

H₁: Los probióticos en estudio reducen la incidencia de bacterias patógenas que afectan la producción de larvas de camarón.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Clasificación taxonómica del Camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

Figura 1. Ejemplar perteneciente a la especie de camarón blanco (Litopenaeus vannamei).
Fuente: COFA, 2019



Reino: Animalia

Filo: Artrópoda

Subfilo: Crustácea

Clase: Malacostraca

Orden: Decápoda

Familia: Penaeidae

Género: Litopenaeus

Especie: *vannamei* Boone, 1931

6.2. Generalidades

El camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), es una especie perteneciente a la orden decápoda, posee un cuerpo cilíndrico y ligeramente comprimido lateralmente, con cefalotórax definido el cual porta un rostrum aserrado en la parte frontal.

Su anatomía externa se caracteriza por un tronco compuesto de 14 segmentos más el telson de los cuales los ocho primeros forman el tórax y los últimos seis el abdomen; todos los segmentos portan apéndices, los que se encuentran en el abdomen anterior son llamados pleópodos y son usados para nadar y los posteriores son llamados periópodos que son usados para caminar en el fondo (Perez Farfante, 1971)

Posee una boca en posición ventral y el aparato digestivo se ensancha a lo largo del dorso, para formar una glándula digestiva grande llamado hepatopáncreas que excreta enzimas digestivas. El cordón nervioso se extiende a lo largo del vientre. Su órgano excretor es la glándula antenal que lanza sustancias de desecho al exterior. El sistema circulatorio es abierto y compuesto por vasos sanguíneos que transportan la hemolinfa la cual posee cobre y transporta el oxígeno, por la que desarrolla un color azulado, el oxígeno y el dióxido de carbono es transportado desde y hasta las agallas donde se realiza el intercambio gaseoso (Perez Farfante, 1971).

6.3. Distribución

Esta especie es nativa del oriente océano pacífico, encontrándose desde México hasta el noroeste de Perú (Menz & Bowers, 1980)

6.4. Hábitat

El camarón blanco habita en aguas con fondos lodosos o arena con lodo, con una profundidad aproximada entre 5 y 72m. Los adultos se desarrollan en ambientes netamente marinos mientras que las larvas y postlarvas pueden desarrollarse en estuarios y lagunas salobres (Bermúdez et al., 2002). Las temperaturas ideales para su desarrollo oscilan los 20° C (FAO, 2002).

6.5. Alimentación

Es una especie detritívora, se alimenta de restos de animales, desechos y partículas orgánicas, así como también puede comer gusanos, bivalvos y otros pequeños crustáceos del fondo (Dugassa & Gaetan, 2018).

6.6. Reproducción

Es una especie dioica, las estructuras externas del sistema genital son las principales características de dimorfismo. El macho posee dos pares de apéndices abdominales modificados en el primer y segundo segmento abdominal (petasma y el apéndice masculino) que transportan los espermatozoides al receptáculo externo de la hembra (téllico) ubicado entre el cuarto y quinto par de pleópodos. El petasma y el telicum se encuentran en la zona ventral; el téllico en las hembras es cerrado, por

lo que, los espermatozoides son colocados por el macho en el canal a la altura de este (Dugassa & Gaetan, 2018).

6.7. Ciclo de vida

El ciclo de vida del camarón blanco inicia desde la fecundación de los huevos, proceso que se lleva a cabo de manera externa, luego de eclosionar pasan por una serie de metamorfosis antes de llegar a ser organismos adultos.

6.8. Estadios larvarios

- **Nauplio**

El proceso de eclosión se da después de unas 10 – 14 horas a la fecundación, dando lugar al primer estadio denominado nauplio. Este estadio tiene 5 subestadios (nauplio I, II, III, IV, V). Esta fase naupliar dura unas 40 – 50 horas aprox. Los organismos se caracterizan por tener un tamaño pequeño (0.5mm long, 0,2mm anch.). Están compuestos por un ocelo y su principal fuente de alimento es únicamente vitelo (Alonso & Hernández, 2011).

- **Zoea**

Después que el organismo atravesó el estadio de nauplio 5, inicia su etapa zoeal, misma que tiene 3 subestadios. Tiene una duración aproximada entre 3 – 4 días. Se caracteriza debido a que el primer y segundo maxilípedo ya están bien desarrollados ayudando a la movilidad del organismo; a esto también se suma que inicia con una alimentación externa basada en microalgas. En esta etapa se logra

visualizar cambios morfológicos más evidentes como el tamaño del organismo, presencia de ojos sésiles y posteriormente pedunculados, desarrollo del rostro, entre otras (Treece & Yates, 1993).

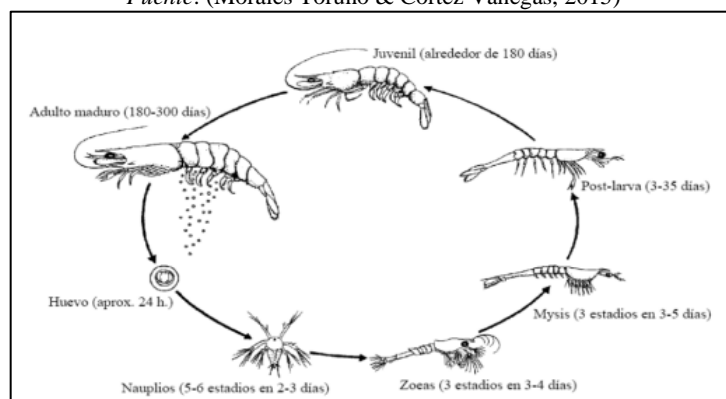
- **Mysis**

Esta etapa también tiene 3 subestadios, donde se denota variaciones en el nado, mismo que se vuelve una función del periopodo con asistencia de los 3 pares de maxilípedos, las antenas son reducidas y ya tiene forma de un cuerpo típico de camarón (Treece & Yates, 1993), al finalizar esta etapa los pleópodos están completamente desarrollados.

- **Postlarva**

Los primeros 4 o 5 días postlarvales, el organismo es netamente planctónico, sin embargo, en la subetapa PL7 se puede observar que las larvas se logran enterrar en la arena. Su alimentación se logra gracias a la acción de los periópodos quelatados que alcanzan y sujetan la comida y los pleópodos son estructuras natatorias (Treece & Yates, 1993).

Figura 2. Estadios larvales del camarón
Fuente: (Morales Toruño & Cortez Vanegas, 2015)



6.9. Cultivo de larvas de camarón

En el Ecuador se inició con el cultivo de camarón a inicios de los años 60, en la provincia de El Oro. El total de hectáreas de producción del sector camaronero, en el país, es de 220 000 ha, donde las principales provincias que se dedican a este recurso son: Guayas con 60%, El Oro con 15%, Esmeraldas con 9%. Otro 9% está en Manabí y 7% en Santa Elena, dichas provincias mencionadas se encuentran rodeadas de los bosques y manglares, además de un clima y una posición geográfica ideal para el crecimiento de la camaronicultura (Gómez & Parrales, 2019). En la provincia de Santa Elena se aplican sistemas de producción intensivos y semi-intensivos, siendo una de las principales provincias generadoras de ingresos en este sector económico.

6.10. Patógenos que amenazan los cultivos de camarón blanco

El cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en cautiverio, se encuentra constantemente amenazado por diferentes patógenos que aparecen debido a los cambios que va presentando el agua y otros factores dentro del proceso. En este caso, los principales registros de patógenos afectantes son bacterias del género vibrio, consideradas como oportunistas e identificadas en el tracto digestivo, branquias y cutícula de los camarones, la acción de estas bacterias desarrolla infecciones como: vibriosis, hepatopáncreas edematoso y necrótico, provocando cuantiosas pérdidas en el cultivo de no controlarse o evitarse a tiempo (Urresta, 2017).

- ***Vibrio parahaemolyticus***

Este patógeno se encuentra ampliamente distribuido en ambientes marinos y se desarrolla en temperaturas óptimas de 35 a 37° C (Zamora et al., 2005) (Broberg et al., 2011). En el cultivo de camarón según Galaviz en el estudio realizado en 2021 menciona que desde 2013 se ha presentado pérdidas de más del 80% debido a una enfermedad denominada necrosis hepatopancreática aguda causada por *Vibrio parahaemolyticus*.

- ***Vibrio vulnificus***

Esta especie de vibrio también desarrollado en ambientes marinos y salobres es la responsable de enfermedades presentes en el cultivo de larvas de camarón conocidas como vibriosis. Los organismos infectados presentan colonización por vibrios en la región oral y en los apéndices, exteriorizan coloración rojiza acompañada de cromatóforos expandidos, músculo abdominal opaco, arrastre de muda (muda pegada), encalambramiento, melanización y degeneración con pérdida de las setas de los apéndices (Cuéllar-Anjel, 2013).

6.11. Probióticos

Los probióticos toman cada vez más relevancia en cultivos acuícolas debido a sus efectos positivos sobre la salud intestinal y el sistema inmunológico de los individuos, así como también al medio ambiente. El objetivo principal es mejorar la salud animal, el índice de conversión de alimento, la tasa de crecimiento, la

resistencia a las enfermedades y, por supuesto, la rentabilidad, sin recurrir a los antibióticos (He, 2021).

Seguidamente, se detalla los probióticos mayormente utilizados en el sector de la industria camaronera:

- **Tratamiento control**

Contiene cultivos microbianos naturales, no tóxicos y enzimas con estabilizadores añadidos y estimulantes de crecimiento en un portador carbohidrato inherente.

- Reduce con eficacia los niveles peligrosos de amoníaco, nitrito, y de agentes contaminadores del del agua de los laboratorios.
- Establece un cultivo natural fuerte de las bacterias en el agua que suprime el crecimiento de bacterias dañinas tales como la *Vibrio sp.*
- Reduce significativamente los problemas de Síndrome de Zoea.
- Aumenta la supervivencia de las PIS y cosechas.
- Reduce la necesidad de recambios de agua proporcionando un ambiente más bio-seguro.
- Deja atrás agua más limpia reduciendo la contaminación del agua descargada.
- No requiere de activación por lo que reduce posibles errores en la aplicación del producto.
- Se dispersa en agua con ningún residuo áspero que necesite filtración.

- **Tratamiento A**

Es una saludable microflora gastrointestinal, previene trastornos digestivos, refuerza la resistencia ante enfermedades y el estrés, y mejora el rendimiento del cultivo de camarón a través de una mayor disponibilidad de alimento y bioseguridad al limitar patógenos. Está conformado por *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. cellobiosus*, *L. fermentum* y *L. helveticus*, entre otros ingredientes (PROBACSA. , 2021).

- **Tratamiento B**

Regula o mejora el ambiente microbiológico, permite el establecimiento de microflora gastrointestinal saludable, reduce los trastornos digestivos, mejora la salud preventiva, terapéutica y aumenta los incrementos de peso a través de la disponibilidad biológica de alimento. Además, esta formulación ofrece bioseguridad al limitar la actividad de bacterias patógenas, balancea y mantiene una saludable flora intestinal, mejora la resistencia ante enfermedades, stress y reduce el índice de mortalidad. Tratamiento natural para promover un cultivo de camarón sustentable (Starssa, 2019).

6.12. Agares

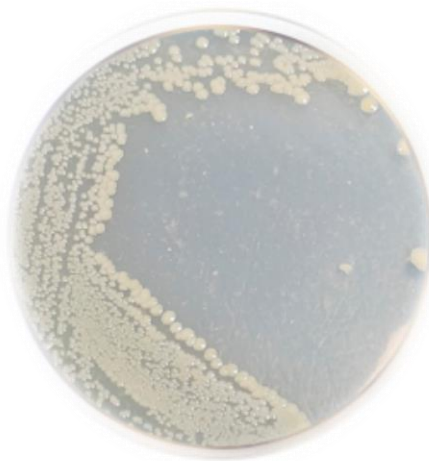
Su uso principal es como soporte de cultivo en microbiología, para el crecimiento de bacterias, hongos y virus bacteriófagos. Presenta la gran ventaja de que casi ningún microorganismo es capaz de degradarlo, por lo que las placas fabricadas con él no se alteran (FAO, 1990).

Agares utilizados como medios de cultivo para identificación de bacterias patógenas:

- **Agar Marino**

Medio de cultivo formulado tomando en cuenta las características originales descritas por ZoBell (1947), simulando la composición mineral y salinidad marina, además, se ha combinado con peptona y extracto de levadura, que provee nitrógeno y factores de crecimiento que aportan al desarrollo de las bacterias heterótrofas. Presenta un color amarillento, con capacidad de inocular de 30 a 300 UFC, la Incubación se recomienda a 20-25 °C, mientras que el tiempo de lectura puede ser desde 24 a 72 horas (Bioagar, 2021)

Figura 3. Bacterias heterótrofas en agar marino
Fuente: (TM MEDIA, 2018)



- **Agar Cetrimide**

El Agar Cetrimide, es un medio sólido selectivo de Pseudomonas, está constituido por compuesto digestivo pancreático de gelatina, Cloruro de magnesio, Sulfato de potasio, Cetrimide (Bromuro de tetradeciltrimetil amonio), este último compuesto inhibe el desarrollo al tratarse de un compuesto cuaternario de amonio, dicho medio promueve la producción de piocianina y fluoresceína que se observan con luz ultravioleta en la producción de pseudomonas (Dickinson, 2003).

*Tabla 1. Características presentes en colonias sembradas en agar cetrimide.
Fuente: (Bioagar, 2018)*

Microorganismo	Apariencia típica de la colonia
Pseudomona aeruginosa	Amarillo verdoso – verde oscuro - azulado

*Figura 4. UFC presentes en agar cetrimide.
FUENTE: (Bioagar, 2018)*



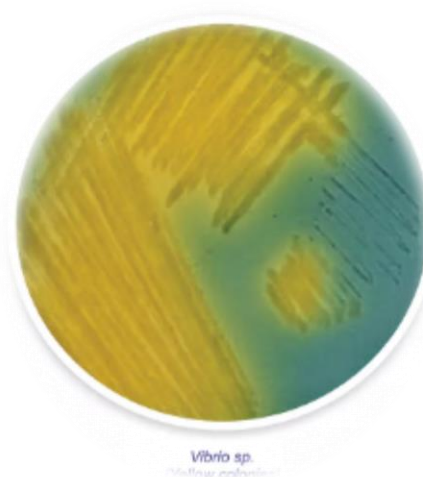
- **Agar TCBS**

El Thiosulfate Citrate Bile Salt (TCBS), fue creado por Kobayashi (1963) y modificado por Nakanishi; este es un medio diferencial y específico para el crecimiento de vibrios patógenos, gracias a su pH de 8,6 y 0,5% de NaCl que inhibe el desarrollo de colonias de la familia Entobacteriaceae, Pseudomonas y bacterias gran positivas y provee las condiciones a los cuales los vibrios están adaptados (Dickinson, 2019).

Tabla 2. Características presentes en colonias sembradas en agar TCBS
Fuente: (TM MEDIA, 2018)

Microorganismo	Apariencia típica de la colonia
<i>Vibrio cholera</i>	Amarillo
<i>Vibrio fluviales</i>	Amarillo
<i>Vibrio paraemolyticus</i>	Verde azulado
<i>Vibrio vulnificus</i>	Amarillo verdozo

Figura 5. Colonias de vibrios presentes en Agar TCBS
Fuente: (TM MEDIA, 2018)



- **Agar Sabouraud**

Medio de cultivo no selectivo, el cual es utilizado especialmente para el cultivo y mantenimiento de hongos tanto patógenos como no patógenos, la fórmula original fue desarrollada por Raymond Sabouraud en 1892 (Odds, 1991), cuya característica es poseer un pH bajo (5,6) y alta concentración de glucosa, y dado que muchas bacterias toleran estas condiciones, en especial durante incubación prolongada, a menudo es necesario para el aislamiento de hongos, desarrollarse fórmulas con inhibidores antibacterianos (Agar, 2015).

Tabla 3. Coloración característica de colonias en Agar Sabouraud
Fuente: (MCD LAB, 2022)

Microorganismo	Apariencia típica de la colonia
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Blanca, reverso blanco a marrón
<i>Candida albicans</i>	Blanca a crema
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Blanca a crema
<i>Escherichia coli</i>	Blanca a crema
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Blanco a negro, reverso amarillo

Figura 6. Hongos presentes en Agar Sabouraud
Fuente: (Trenkić et al., 2022)



- **CHROMAGAR**

Es un medio Medio cromogénico para el aislamiento y la detección de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* y *V. cholerae*. gracias a su potente tecnología cromogénica es fácil de leer. Está compuesto por Agar (15,0), Extracto de peptonas y levadura (8,0), Sales (51,4) y una Mezcla cromogénica (0,3), estos valores en un total de 74,7 g/l. su pH final medio es de 9 y se debe almacenar entre los 15 y 30 °C e incubar a 37 °C durante 24 horas en condiciones aerobias (CHROMagar, 2021).

Las cualidades fenotípicas para el control de colonias pertenecientes al género vibrio se las otorga debido al color que presenten las mismas, siempre que la preparación del medio y el aislamiento se haya realizado de la manera correcta (CHROMagar, 2021).

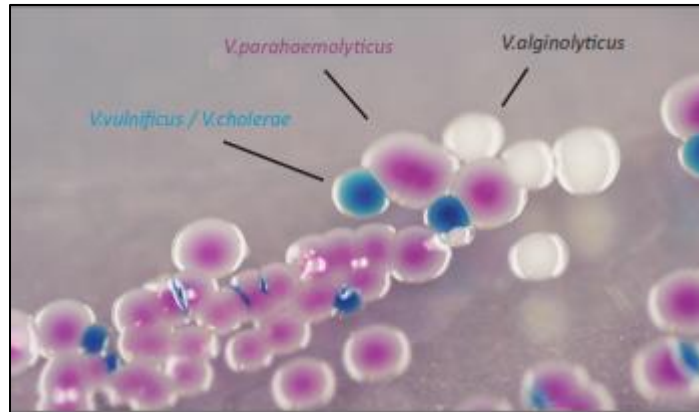
Las características que pueden presentar dependiendo de la especie se muestra en la siguiente tabla 1.

Tabla 4. Caracterización fenotípica de bacterias del género vibrio
Fuente. (CHROMagar, 2021).

Microorganismo	aparición típica de la colonia
<i>V. vulnificus</i>	Verde azulado
<i>V. parahaemolyticus</i>	Malva
<i>V. alginolyticus</i>	Crema

Figura 7. Bacterias pertenecientes al género vibrio desarrolladas en CHROMagar.

Fuente: (CHROMagar, 2021)



- **Agar MRS**

Agar M.R.S. desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, es un medio de cultivo recomendado para realizar aislamiento y recuento de Lactobacilos y de otras bacterias ácido láctico en muestras de diversos orígenes (Bioagar, 2021).

El medio MRS es una modificación que suple con ventaja a los medios anteriormente utilizados para el cultivo de lactobacilos, todos ellos basados en las propiedades nutritivas del jugo de tomate. La adición de magnesio, manganeso y acetato, junto con el polisorbato facilitan en gran forma el crecimiento de los bacilos lácticos, incluso las especies más exigentes, como *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus fermenti*. La alta calidad de las peptonas y los suplementos de los extractos de carne y levadura, proporcionan los factores de crecimiento necesarios para hacer del MRS uno de los medios más completos para el cultivo de lactobacilos. Sin embargo, su selectividad es escasa y con frecuencia se suelen presentar contaminantes, con lo cual se precisa una mayor selección. Para ello se

recomiendan los subcultivos alternados en medio sólido, en doble capa y en caldo. En muchas ocasiones el crecimiento se favorece con una atmósfera de CO₂ (Bioagar, 2021)

Este medio está especialmente recomendado para la enumeración y mantenimiento de bacilos lácticos, ya sea por la técnica del NMP (Caldo MRS) o en placa por siembra en masa y cubriéndolo con una segunda capa de medio fundido, que normalmente evita la necesidad de la atmósfera enriquecida en CO₂, sobre todo en el primo-aislamiento (Bioagar, 2021).

*Figura 8. UFC pertenecientes a lactobaacilus en agar MRS.
Fuente: (CONDALAB, 2022)*



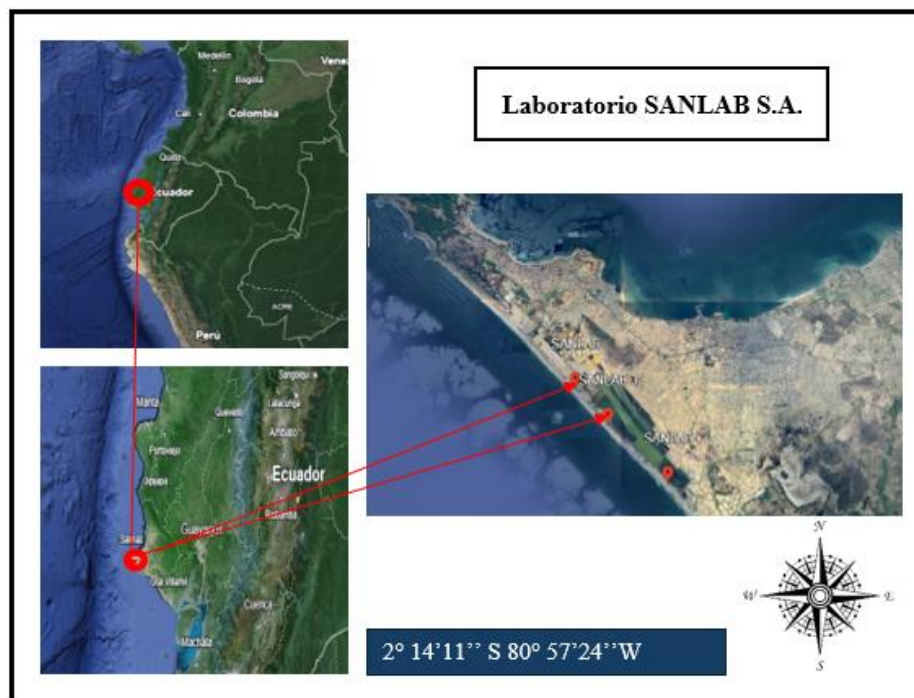
7. MARCO METODOLÓGICO

7.1. ÁREA DE ESTUDIO.

El presente estudio se llevó a cabo en dos de los módulos pertenecientes al laboratorio de la empresa SANLAB S.A con coordenadas $2^{\circ} 14'11''$ S - $80^{\circ} 57'24''$ W, ubicado en Mar Bravo, cantón Salinas en la provincia de Santa Elena - Ecuador. En el módulo 3 se realizó la fase de producción, mientras que en el módulo 1 se procedió con el análisis microbiológico.

Figura 9. Mapa identificativo del sitio de estudio, Laboratorio SANLAB S.A. Cantón Salinas, provincia de Santa Elena

Fuente: Loza, 2024



7.2. FASE DE CAMPO.

7.2.1. Cultivo de larvas.

Los cultivos se realizaron durante dos ciclos productivos en el periodo de los meses de febrero y marzo del 2024. Cada ciclo comprendió de 20 días de producción, dos días libres y ocho días de preparación y desinfección. Los nauplios que se utilizaron fueron provenientes del área de maduración perteneciente a otro laboratorio comercial.

La producción de larvas se llevó a cabo en tres tanques de 26 toneladas de capacidad, las dimensiones de estos fueron 12 m de largo x 2m de ancho x 1.5 m de alto. Este trabajo comprendió en el análisis de tres tratamientos: el primer tratamiento fue el grupo control, donde se utilizó el probiótico aplicado mediante el protocolo de la empresa. Para el segundo tratamiento y tercer tratamiento se utilizaron 2 tipos de probióticos comerciales Probiotico A y Probiotico B

La densidad de cultivo aplicada fue de 95 larvas por litro (de acuerdo con el protocolo de siembra del laboratorio), desde los estadios Zoea I (ZI) a Postlarva 9 (PL9), ya que mediante esta densidad se permite tener una tasa de crecimiento favorable durante la producción.

Los registros de alimentación, dosis de probiótico aplicadas y concentración usada fueron anotadas en bitácoras de alimentación y manejo correspondientes al

laboratorio; el recambio de agua en los tanques de cultivos se realizó desde el estadio PL1 en adelante, con un promedio de recambio de agua del 30%.

7.2.2. Registro de parámetros.

La toma de parámetros tanto físicos como químicos se realizó durante todo el ciclo de cultivo usando los equipos y materiales adecuado para la toma de datos de cada uno de estos. Los parámetros de pH y temperatura fueron tomados dos veces en el día: una vez en la mañana y una en la tarde. Para conocer el valor de pH se procedió a tomar una muestra de agua en un vaso de precipitación, donde se introdujo el pHmetro, se observó y se anotó el valor en la base de datos. De igual manera el valor de la temperatura se obtuvo mediante la medición con un termómetro y así mismo se registró los datos obtenidos de cada uno de los tanques de estudio en la base de datos.

7.2.3. Alimentación.

Para la alimentación en cada uno de los tanques de cultivo, se siguió el protocolo que utiliza la empresa, en el que la frecuencia de alimentación es cada 3 horas empezando desde las 9:00am en adelante, se tomó en cuenta los estadios larvarios que vayan presentando cada uno de los tanques para proceder con la cantidad y tipo de alimento establecidos.

7.2.4. Aplicación de probióticos.

Los probióticos comerciales usados en este estudio fueron, como antes se menciona, populares comercialmente. El primero es una mezcla de bacterias *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* y otros ingredientes. Mientras que el segundo resulta ser una saludable microflora gastrointestinal, previene trastornos digestivos, refuerza la resistencia ante enfermedades y el estrés, y mejora el rendimiento del cultivo de camarón a través de una mayor disponibilidad de alimento y bioseguridad al limitar patógenos. Está conformado por *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. cellobiosus*, *L. fermentum* y *L. helveticus*, entre otros ingredientes. Asimismo, el probiótico utilizado en el laboratorio contiene cultivos microbianos naturales, no tóxicos y enzimas con estabilizadores añadidos y estimulantes de crecimiento en un portador carbohidrato inherente, mismas que reducen con eficacia los niveles peligrosos de amoníaco, nitrito, y de agentes contaminadores del agua de los laboratorios.

Los probióticos fueron aplicados cada 12 horas, es decir, 2 veces al día durante cada estadio larvario, iniciando desde Z1 a Z3 en una densidad de 2ppm/T, de M1 a M3 2.5ppm/T, de PL1 a PL5 4ppm/T y de PL6 a PL9 5ppm/T, cabe mencionar que las dosis fueron aplicadas por igual para los 3 probióticos utilizados en este trabajo. Para la activación de estos, se siguió las indicaciones de acuerdo con lo establecido por la ficha técnica del producto, donde se indica que la preparación consiste en la hidratación del producto junto con melaza durante 3

horas antes de aplicarlo a los tanques de producción, una vez cumplido este tiempo de reposo se administra a los tanques para su posterior consumo.

7.2.5. Selección de muestras

Se tomó una muestra de larvas de cada tanque durante el inicio de cada fase larvaria: Z3, M3, PL3, PL6 y PL9, ya que es en este periodo cuando los organismos tienen los mayores cambios morfológicos.

Así mismo, para el muestreo de larvas se siguió el protocolo establecido por el laboratorio, donde se utilizó una bandeja de dos litros previamente esterilizada, siendo esta introducida a una profundidad de 6cm del tanque y con la ayuda de un colador se recolectó aproximadamente un gramo de larvas. Las muestras colectadas fueron puestas en fundas plásticas, previamente rotuladas, y posteriormente transportadas al departamento del área de microbiología.

7.3.FASE DE LABORATORIO

7.3.1. Medios de cultivo.

Para esta evaluación, se utilizó seis diferentes medios de cultivos microbiológicos basados en agar: Agar Marine, Cetrimide, TCBS, Sabouraud, CHROMOagar, MRS. Estos son medios nutritivos y selectivos que presentan los nutrientes esenciales para el crecimiento bacteriano y fueron preparados siguiendo la metodología según Barrero (2016).

Durante esta fase se realizó una caracterización cuantitativa del microbiota presente en los tanques, así como la presencia o ausencia de colonias de probióticos.

7.3.2. Técnica de siembra en Agar.

Las muestras fueron sometidas a un proceso de dilución con el propósito de obtener cultivos bacterianos puros en las placas, siguiendo las pautas metodológicas que indican que la dilución ideal es aquella que produce entre 30 y 300 colonias por placa (Diaz et al., 2003).

Las siembras se realizaron siguiendo la metodología de (Arana et al., 2016), empleando diluciones sucesivas en una relación 1:10 para las muestras de agua y macerado de larvas. Para esto, las muestras de larvas fueron separadas del agua mediante mallas de diferente tamaño de poro, para después macerarlas en un mortero hasta obtener una muestra homogénea, de la cual se extrajo una fracción de 0,1 mg y fue colocada en tubos de ensayo.

Siguiendo los métodos de Barrero (2016) y Sanz-Cervera (1999), cada tubo utilizado para las diluciones contuvo 900 μ l (microlitros) de solución salina al 2% con NaCl (Cloruro de sodio) estéril, el cual se complementó con 100 μ l de las muestras. Posteriormente, se colocaron 100 μ l de cada dilución en su respectiva caja petri, con los seis tipos de agares utilizados en este estudio. Luego, se procedió a realizar la siembra, esta técnica consiste en extender la muestra con movimientos

en zig zag con ayuda de un asa de vidrio en forma de bastón (asa de Drygalski), previamente esterilizada al calor, por toda la superficie, evitando dañar el medio. Por último, las placas se mantuvieron en una incubadora BEKTRON Model BKE – 65L, en posición invertida entre 33°C por 24 horas para las muestras de agua y de larvas, y 48 horas para las muestras de Cetrimide.

7.3.3. Conteo de colonias.

Basándose en los protocolos de Barrero (2016) y Sanz-Cervera (1999) se realizó el conteo total de unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en cada placa para muestra de agua (UFC.ml-1) y muestra de larvas (UFC.g-1). Los conteos se realizaron con la ayuda del contador de colonias ISO LAB Laborgerate GmbH (BEKTRON Model BKE). Este proceso se realizó basándose en la siguiente conversión:

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

Todos los análisis bacteriológicos fueron determinados por los grados de severidad establecidos según los protocolos del laboratorio de la empresa SANLAB S.A., en base a la experiencia de producción y resultados del departamento de microbiología (Tabla 5).

Tabla 5. Grados de severidad de UFC en larvas y postlarvas de camarón de acuerdo al protocolo establecido por laboratorios SANLAB S.A

Medio de cultivo	Valor normal	Valor severo
Agar Marino (Bacterias totales)	$\leq 10^6$	$> 10^7$
TCBS 1 (Amarillas)	$\leq 10^4$	$> 10^5$
TCBS 2 (Verdes)	$\leq 10^1$	$> 10^1$
<i>V. Parahaemolyticus</i>	$\leq 10^0$	$> 10^0$
<i>V. Vulnificus</i>	$\leq 10^1$	$> 10^2$
<i>V. Alginolyticus</i>	$\leq 10^4$	$> 10^5$
<i>V. Cholerae</i>	$\leq 10^4$	$> 10^5$
Hongos	$\leq 10^4$	$> 10^5$
<i>Pseudomonas</i>	$\leq 10^2$	$> 10^3$

8. ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.

En el presente trabajo se evaluó el control bacteriano ejercido por 3 probióticos comerciales (T0=Control, T1= PRO A y T= PRO B) durante la etapa de cultivo larvario en *L. vannamei*, valorando la presencia de unidades formadoras de colonias (UFC) en seis medios de cultivos (agar marino, agar TCBS, Chromoagar, Cetrimide, Sauboraud y MRS) (Figura 10), identificándose 10 tipos de UFC, entre las cuales se encuentran: bacterias Cremas, naranjas, amarillas, verdes, *V. parahemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *Pseudomonas*, hongos y UFC de bacilos/levaduras.

Figura 10. Medios de cultivos comerciales utilizados (A: Agar Sauboraud, B: Cetrimide, C: Agar MRS, D: Agar marino, E: Agar TCBS, F: Agar Chromoagar).

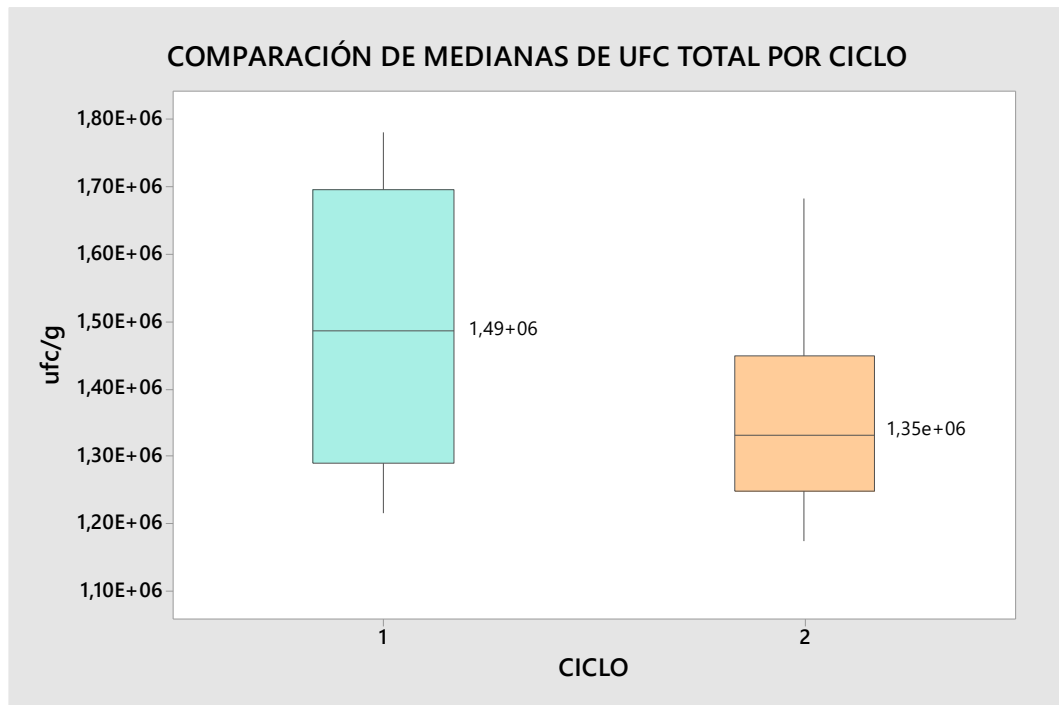


A continuación, utilizando el software estadístico STATGRAPHICS Centurión XVI.I, se realizaron pruebas de normalidad, mediante las cuales se determinó que únicamente los datos provenientes de las UFC de *V. alginolyticus* leídos en Chromoagar presentaron normalidad en su ajuste, por ello se utilizaron

pruebas ANOVA de un solo factor, sin embargo, para las restantes se utilizaron estadísticos no paramétricos con la prueba de Kruskal Wallis. En la siguiente tabla se muestran los recuentos de UFC realizados en los diferentes monitoreos.

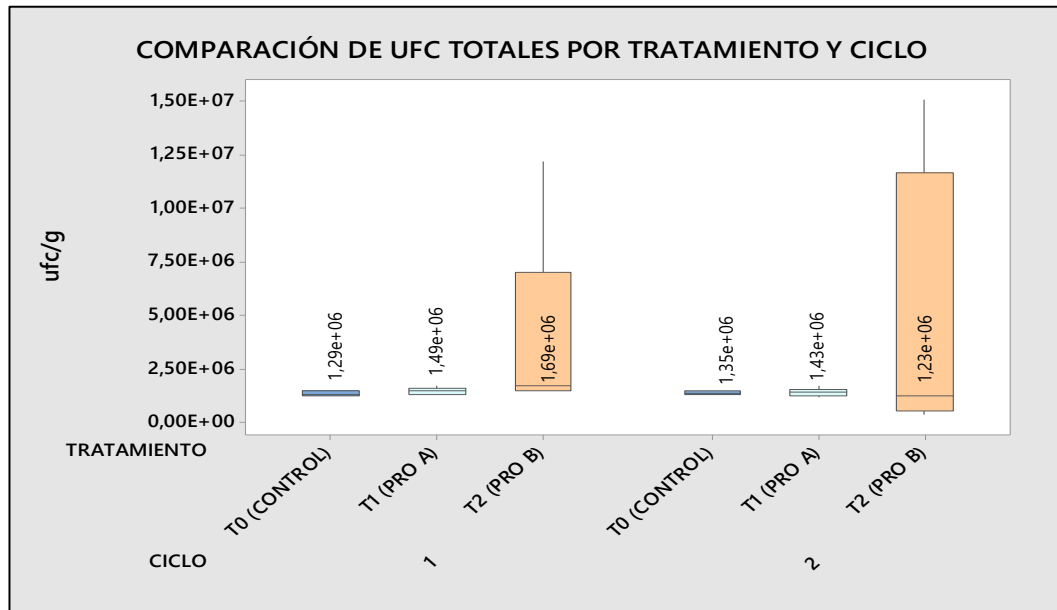
El proyecto se realizó durante 2 ciclos o periodos de siembra, los cuales fueron a partir de nauplio 5 hasta la etapa de postlarva 9 con una duración de 20 días/ciclo, contabilizándose al final del ensayo un total de $1,96e+09$ UFC, tomando en cuenta el conteo total entre los seis medios de cultivo utilizados. Posteriormente, al realizar la comparación de las medianas, se observa que, durante primer ciclo existe una mayor cantidad de UFC en comparación al segundo (Figura 11), sin embargo, al aplicar la prueba de Kruskal-Wallis, se puede evidenciar que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medianas del primer y segundo ciclo, obteniendo un *valor-P* = $0,3095 > 0,05$ (α) con un nivel de confianza del 95%.

Figura 11. Comparación de las medianas de las UFC totales por ciclo contabilizadas entre los 6 medios de cultivos utilizados.



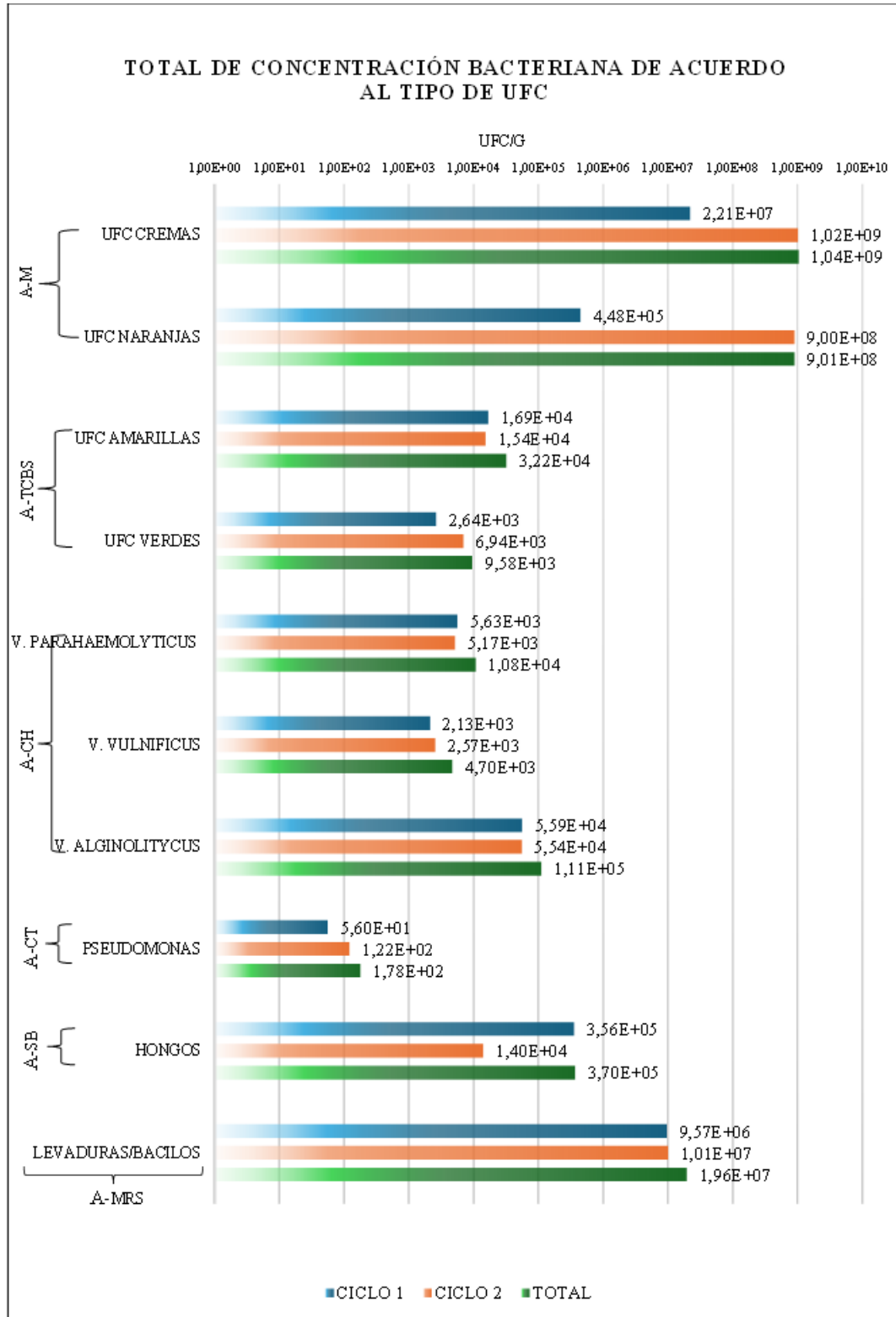
Analizando por separado las UFC totales obtenidas entre los seis medios de cultivos en cada uno de los tratamientos para cada ciclo, se puede afirmar con un 95% de nivel de confianza que, tanto en el primer como en el segundo ciclo no existen diferencias significativas entre las medianas de la concentración total de bacterias por tratamiento (figura 12), a razón de que los *valores-P* obtenidos mediante las pruebas de Kruskal -Wallis fueron de 0,065 y 0,970 respectivamente, ambos mayores al nivel de significancia ($\alpha=0,05$).

Figura 12. Comparación de los tratamientos por ciclo de producción



Continuando con el análisis, se obtuvo el total de la concentración de bacterias por tipo de UFC en las cuales, las colonias cremas y naranjas registradas en Agar marino presentaron una mayor cantidad de registros con valores superiores a $9,01e+08$, mientras que durante los ensayos los registros de *Pseudomonas* presentaron una menor ocurrencia con $1,78 e+02$. En la figura 13, se puede apreciar la cantidad total de UFC (verde) para cada uno de los tipos identificados en los diferentes agares comerciales, así como las cantidades registradas durante el primer (azul) y segundo ciclo (naranja) de producción.

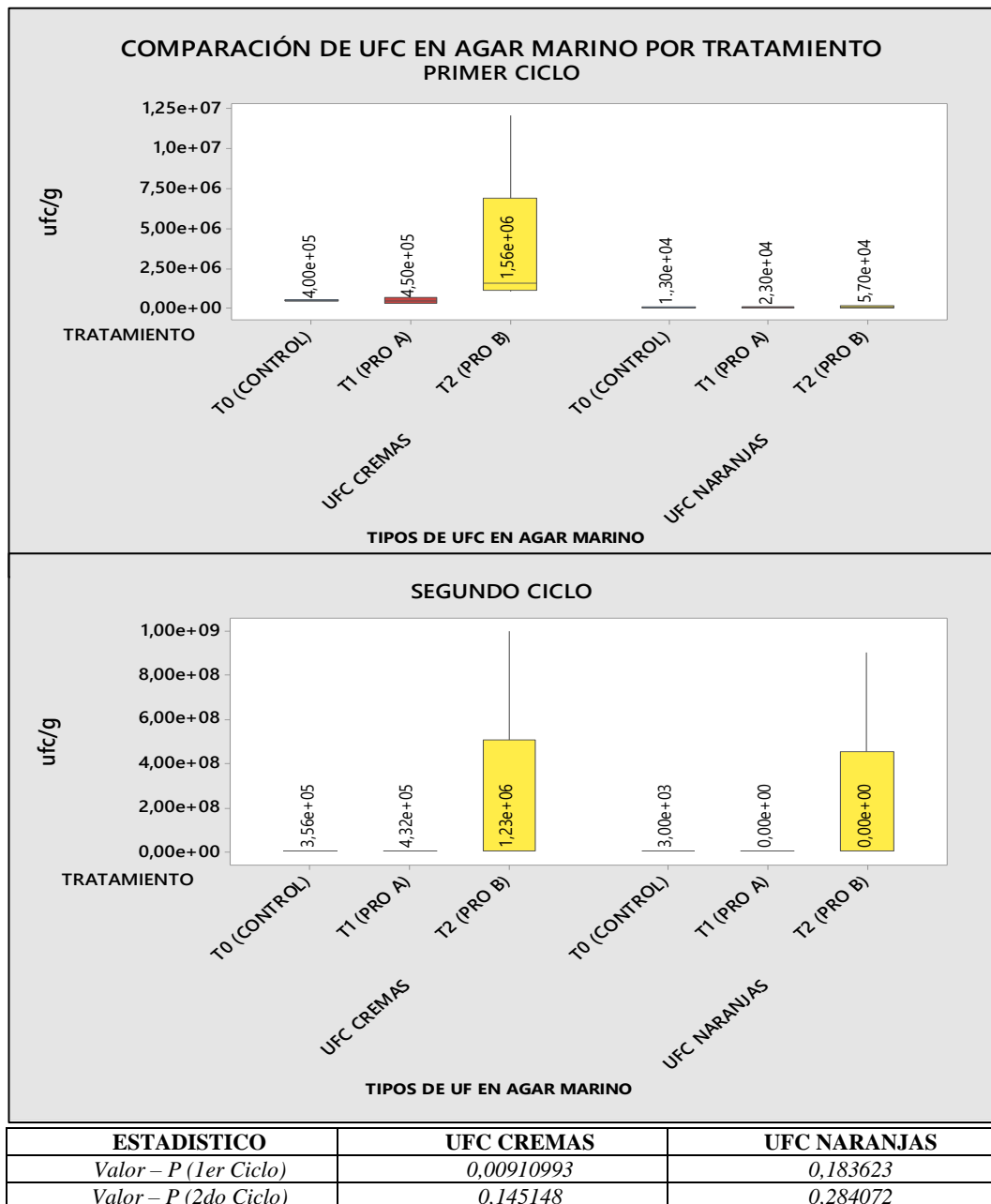
Figura 13. Figura x. (a) Análisis de las cantidades de UFC obtenidas en los diferentes agares utilizados. A-M=agar marino; A-TCBS= agar TCBS; A-CH= Agar Chromoagar; A-CT= Agar Cetrimide; A-SB= Agar Sauboraud y A-MRS= Agar MRS.



UFC PRESENTES EN AGAR MARINO

Mediante el uso de Agar Marino, se identificaron UFC bacterianas cremas y naranjas, las mismas que durante el primer ciclo del proyecto presentaron menor número de colonias en los tanques que fueron tratados con el probiótico control y A, mientras que, para el segundo ciclo, en las UFC naranjas los probióticos A y B presentaron menor concentración bacteriana de acuerdo con la mediana de los datos. En cuanto a la prueba de Kruskal-Wallis ejecutada para corroborar si existe diferencia estadísticamente significativa, se determinó que únicamente durante el primer ciclo se evidencia este contraste de medianas en UFC cremas por tratamiento, con valores-P menores al nivel de significancia, mientras que en el resto de UFC no se presenta diferencia estadística. A continuación, en la siguiente figura se muestran los diferentes niveles de la mediana de las UFC en cuanto a los tratamientos por cada uno de los ciclos en los que se realizó la prueba.

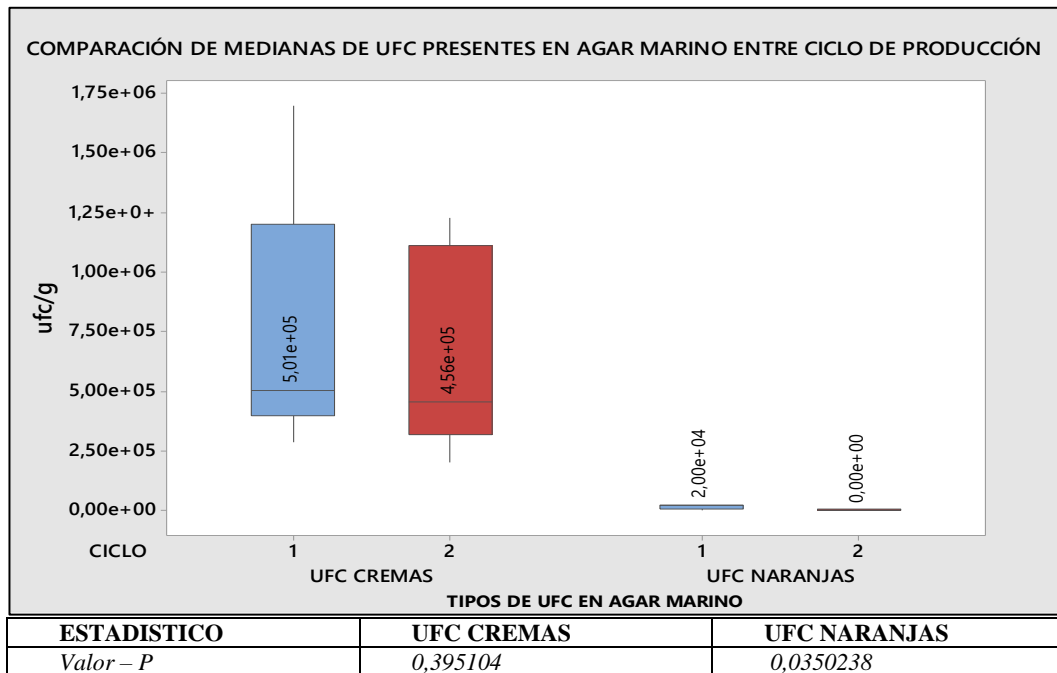
Figura 14. Comparación de las UFC por tratamientos entre los ciclos de producción



Para demostrar si existen diferencias entre la concentración de bacterias registradas en agar marino en cada ciclo de producción se ejecutó el análisis de Kruskal Wallis, donde se evidencia que existen diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza del 95% entre las medianas de las UFC

naranjas del primer y segundo ciclo de con un valor-P menor al nivel de significancia, tal cual se muestra en la siguiente figura

Figura 15. Comparación de las medianas de UFC presentes en agar marino por ciclo de producción

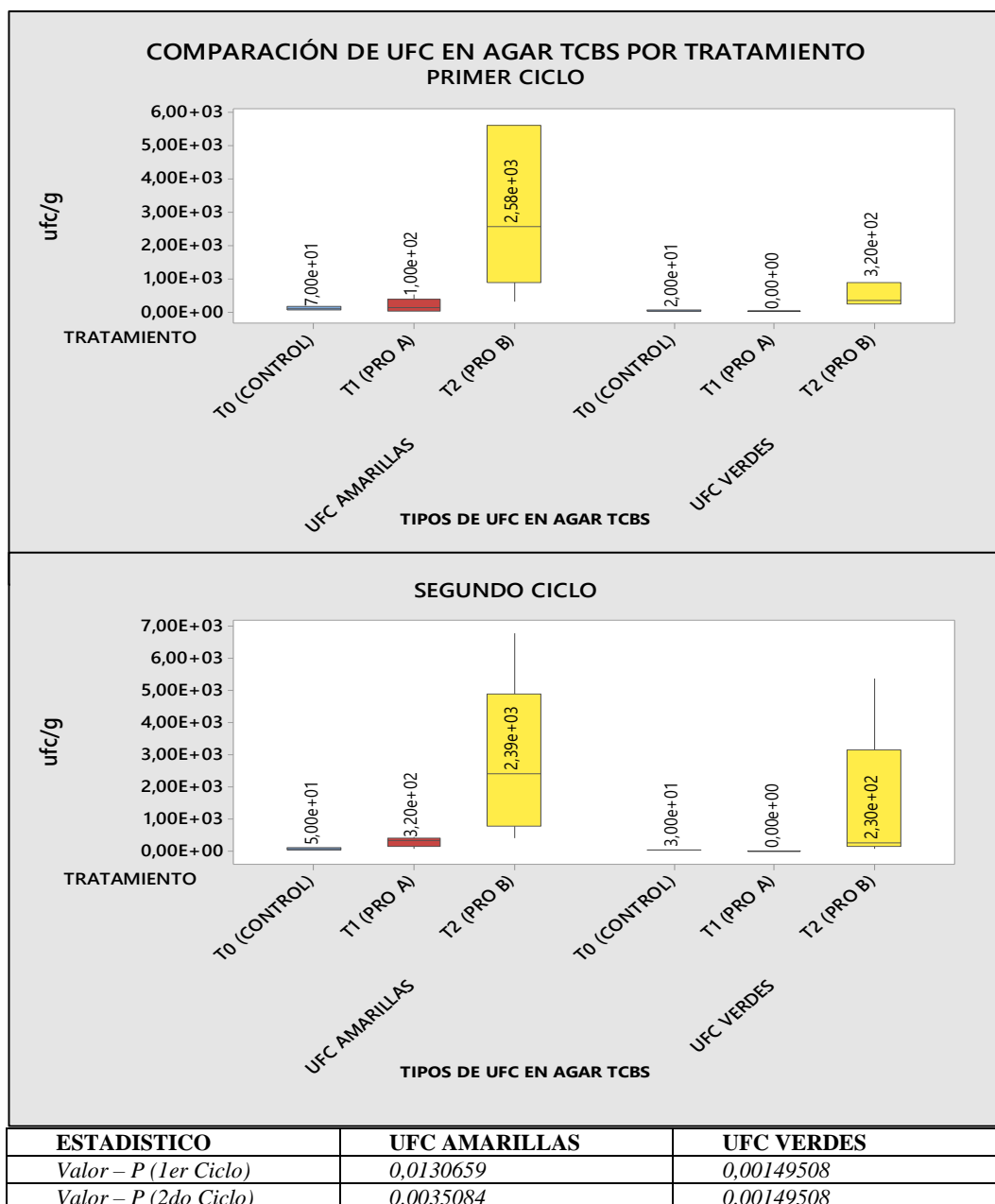


UFC PRESENTES EN AGAR TCBS

En la siguiente figura se puede observar el comportamiento y la efectividad de los dos tratamientos y el grupo control, mediante el análisis de la mediana de los datos de las concentraciones de UFC amarillas y verdes, sembradas en agar TCBS, apreciándose que el tratamiento con el probiótico “A” y el control presenta la formación de un menor número de colonias en las muestras analizadas tanto para el primer como para el segundo ciclo, del mismo modo mediante la aplicación del test de Kruskal Wallis se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de las muestras analizadas por cada tratamiento,

con un intervalo de confianza del 95%, dado que los *valores-P* de los estadísticos fue menor al nivel de significancia de 0.05.

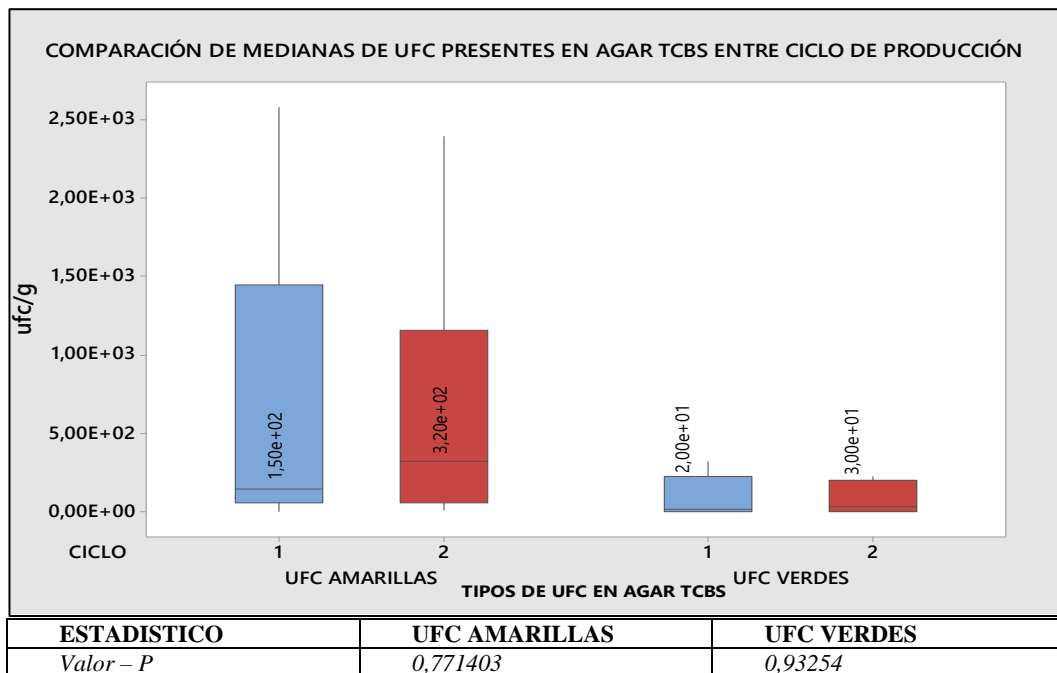
Figura 16. Comparación de las UFC registradas en agar TCBS por tratamientos y ciclos de producción



Para demostrar si existen diferencias entre la concentración de bacterias registradas en agar TCBS en cada ciclo de producción se ejecutó el análisis de

Kruskall-Wallis, mediante el cual se demostró que no existió diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza del 95% entre las medianas de las UFC amarillas y verdes del primer y segundo ciclo de con un valor-P mayor al nivel de significancia, tal cual se muestra en la siguiente figura.

Figura 17. Comparación de las medianas de UFC presentes en agar TCBS por ciclo de producción

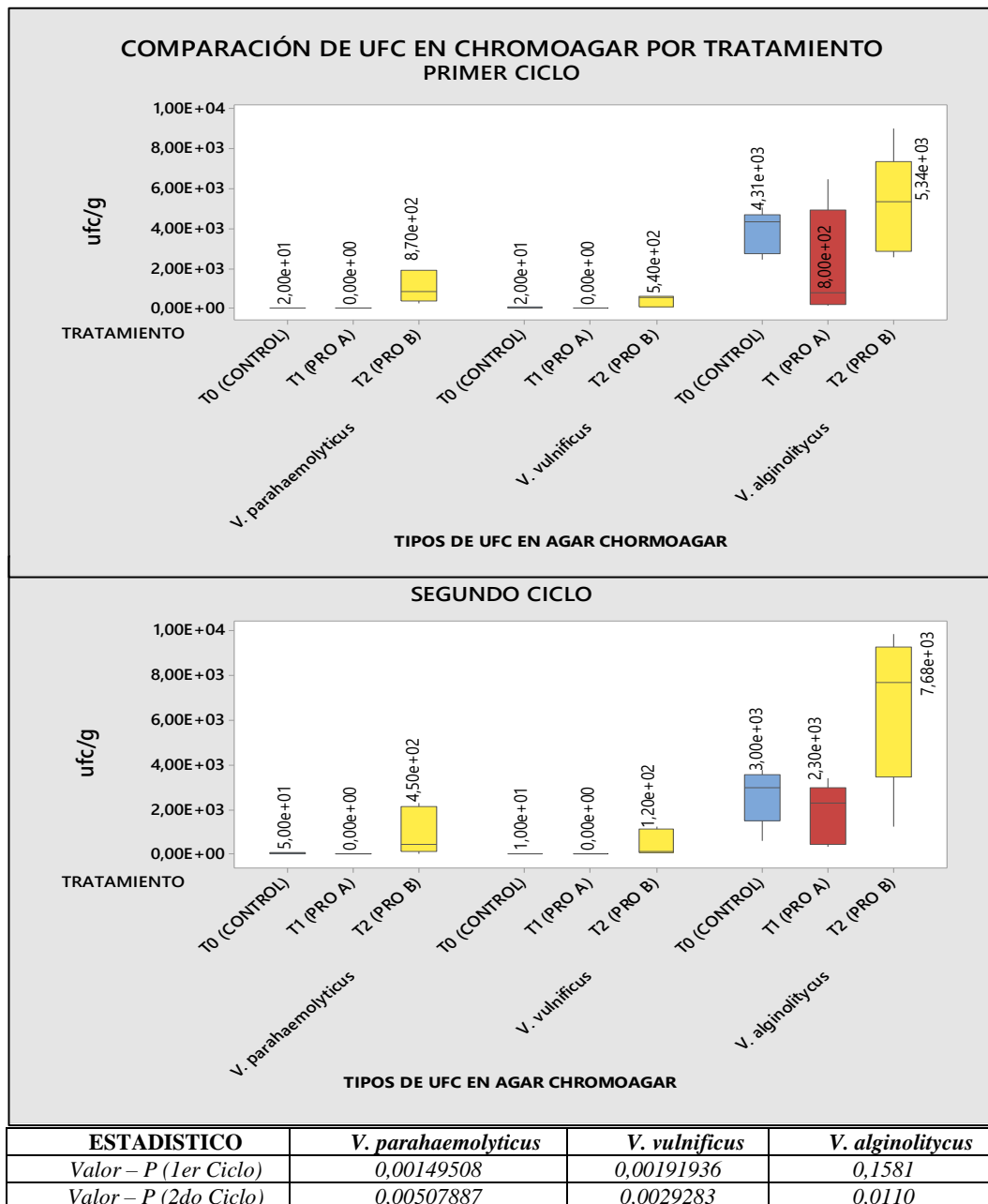


UFC PRESENTES EN CHROMOAGAR

A continuación se presenta el comportamiento y la efectividad de los dos tratamientos y el grupo control, en la inhibición de UFC de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. alginolitycus*, las cuales fueron leídas de la siembras en el medio de cultivo comercial Chromoagar, apreciándose en la siguiente figura que el tratamiento con el probiótico “A” presenta un menor número de colonias en las muestras analizadas. En cuanto a la prueba de Kruskal-Wallis ejecutada se pudo

corroborar que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de los tratamientos para las UFC de *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, dado que el valor P es menor al nivel de significancia de 0,05, mientras que, para las UFC de *V. alginolyticus*, durante el primer ciclo, no se observan diferencias estadísticas significativas a diferencia del segundo ciclo, en donde el valor- P de la razón- F es menor que α , todo esto con un nivel de confianza del 95%.

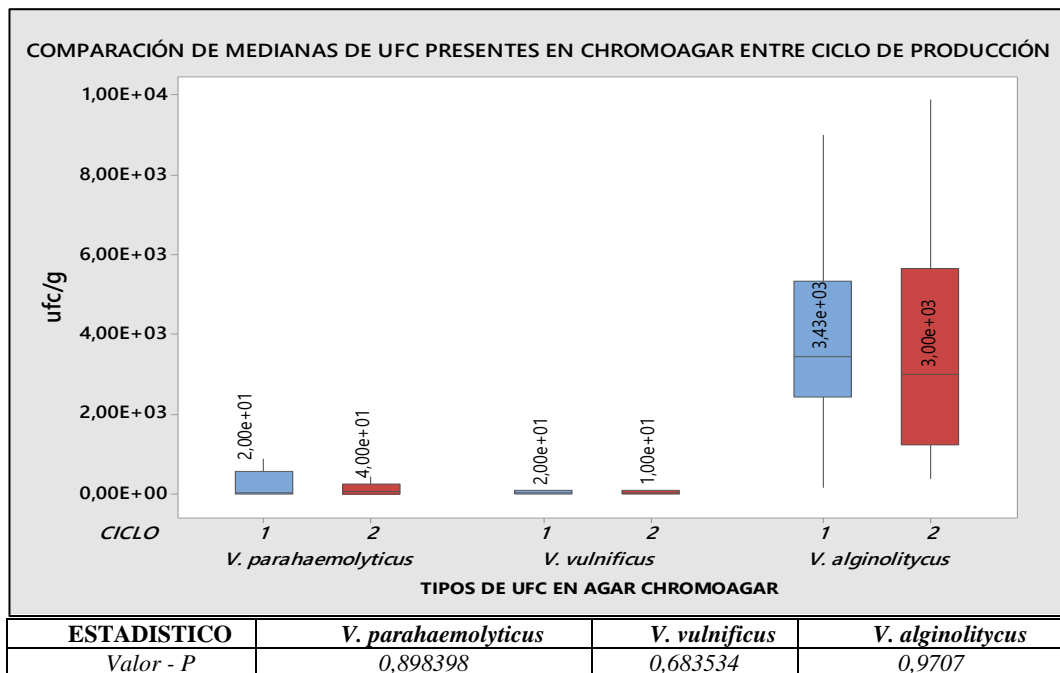
Figura 18. Comparación de las UFC registradas en Chromoagar por tratamientos y ciclos de producción



Con el fin de determinar si existen diferencias entre la concentración de bacterias registradas en agar Chromoagar en cada uno de los ciclo de producción en los cuales se llevó a cabo el proyecto, se ejecutó el análisis de Kruskal-Wallis,

mediante el cual se demostró que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre ciclos, con un nivel de confianza del 95% entre las medianas de las UFC de vibrios del primer y segundo ciclo de con un valor-P mayor al nivel de significancia, tal cual se muestra en la siguiente figura.

Figura 19. Comparación de UFC presentes en Chromoagar por ciclo de producción.

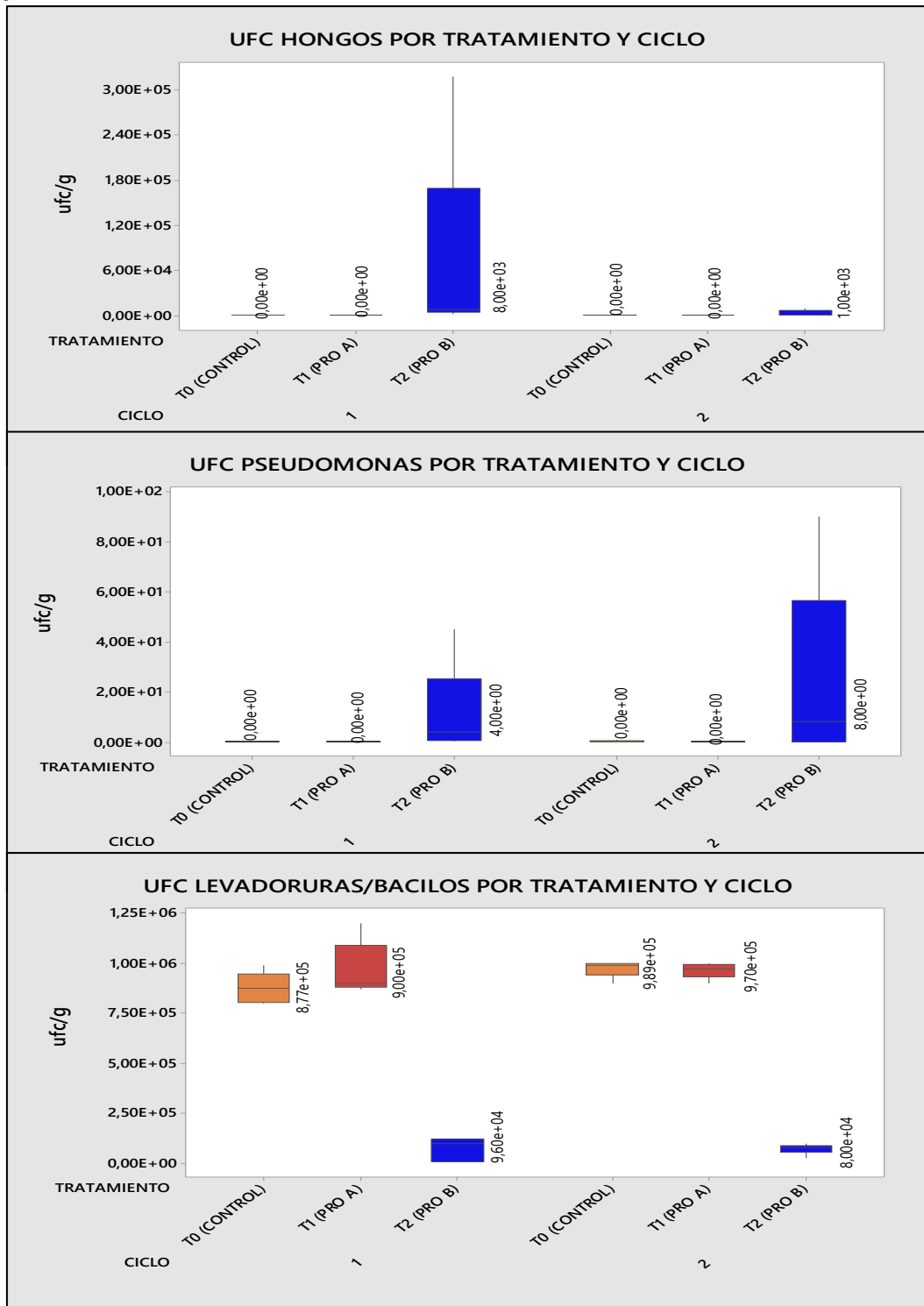


UFC DE PSEUDOMONAS, HONGOS Y LEVADURAS/BACILOS

En la figura 20 se puede observar el comportamiento y la efectividad de los tratamientos a prueba sobre el control de hongos, pseudomonas y levaduras/bacilos, apreciándose que en ambos ciclos el tratamiento control y tratamiento 1 (PRO A) presenta una mayor inhibición contra hongos y pseudomonas; sin embargo, esta efectividad decae en el control de levaduras y bacilos, ya que el tratamiento 2 (PRO B) obtuvo menos concentración de UFC con valores menores a $9,60 \times 10^4$. En

cuanto a la prueba de Kruskal-Wallis ejecutada, se pudo corroborar que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medianas las UFC para cada tratamiento durante el primer ciclo, no obstante, en el segundo ciclo para las UFC de pseudomonas, se observa que no existe una diferencia estadísticamente significativa, dado que el valor $-P$ es mayor al nivel de significancia.

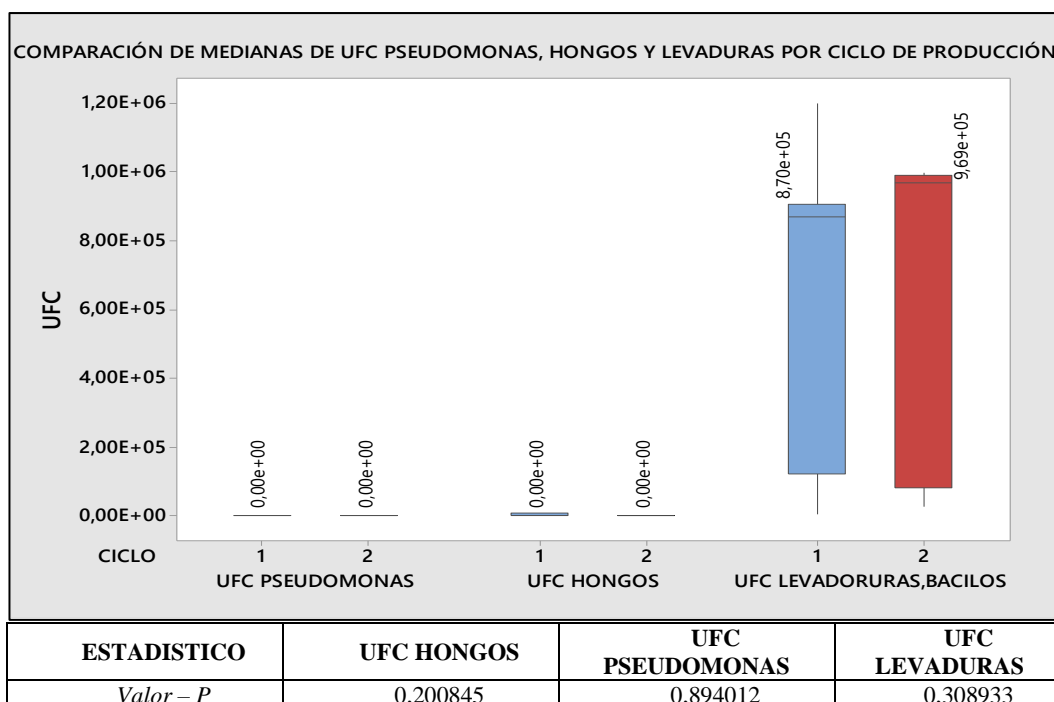
Figura 20. Comparación de las UFC registradas en Chromoagar por tratamientos y ciclos de producción



ESTADISTICO	UFC HONGOS	UFC PSEUDOMONAS	UFC LEVADURAS
Valor - P (1er Ciclo)	0,0023686	0,00714619	0,00752142
Valor - P (2do Ciclo)	0,0317804	0,0765806	0,00821787

En cuanto a la concentración de UFC de hongos, pseudomonas y levaduras registradas de en cada uno de los ciclos de producción en los cuales se llevó a cabo el proyecto, se realizó el análisis de Kruskal-Wallis, mediante el cual se demostró que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas por ciclo, con un valor *P* mayor al nivel de significancia de 0,05 y un nivel de confianza del 95%

Figura 21. Comparación de las medianas de UFC de pseudomonas, hongos y levaduras por ciclo de producción



Dentro del marco de los parámetros fisicoquímicos que conlleva el laboratorio durante la etapa de cultivo larvario, se midieron la salinidad, temperatura y pH del agua de los tanques de producción, los cuales se tomaban 2 veces por día, durante la corrida. En el presente análisis se ha tomado únicamente los datos correspondientes a los días de toma de muestra para análisis bacteriano en

los dos ciclos de estudio, obteniéndose el resumen estadístico expresado a continuación.

Tabla 6. Resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos del agua durante el estudio

	Salinidad	Temperatura	pH
Recuento	30	30	30
Promedio	23,6	31,6	7,82333
Desviación Estándar	7,74864	0,498273	0,156873
Coefficiente de Variación	32,8332%	1,57681%	2,0052%
Mínimo	2,0	31,0	7,5
Máximo	30,0	32,0	8,0
Rango	28,0	1,0	0,5

*En el laboratorio, la salinidad del agua de los tanques varía de acuerdo a la etapa larvaria del camarón, iniciando con 30 ppt en Zoea, descendiendo a 28 ppt en el estado de mysis y finalmente en postlarva se mantiene en 25 ppt, a partir de esta concentración variará de acuerdo a las especificaciones de parámetros que solicite el comprador de la larva para transferir a piscinas de pre-cría.

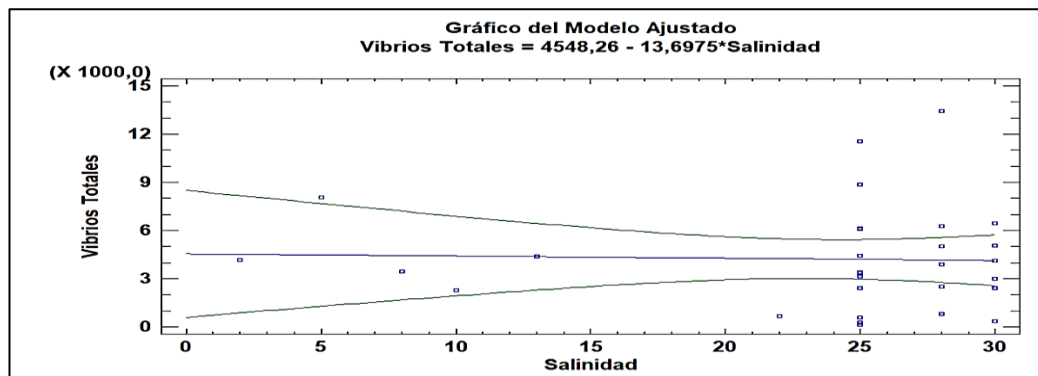
Prosiguiendo con el análisis, se utilizó la correlación de Spearman para determinar si existe una relación lineal entre la concentración total de vibrios en las placas de Chromoagar y cada uno de los parámetros fisicoquímicos medidos en el laboratorio. Esta correlación se establece debido a la característica de los datos, los cuales presentan valores atípicos y no poseen una distribución normal. Producto de la correlación de Spearman entre cada par de variables, se puede concluir con un 95% de nivel de confianza, que no existe relación entre las variables fisicoquímicas con respecto a la concentración de vibrios, dado que los coeficientes de relación tienden a 0, y el valor-P en todas las relaciones es mayor al nivel de confianza de 0,05, lo cual indica que las correlaciones no son significativamente diferentes de cero. Los valores referidos se expresan en la siguiente tabla.

Tabla 7. Resumen estadístico de la correlación de Spearman entre los parámetros fisicoquímicos y la concentración de vibrios totales

	Salinidad	Temperatura	pH
Vibrios Totales (C. Spearman)	0,0137	-0,1022	0,0970
Recuento	(30)	(30)	(30)
R -cuadrada	0,11%	1,58%	0,77%
Valor-P	0,9413	0,5821	0,6015

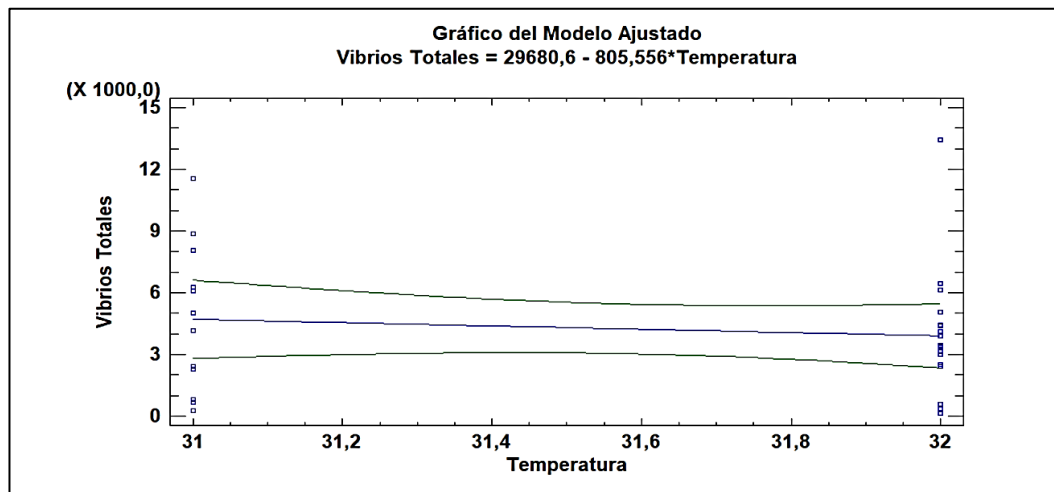
Del mismo modo, se plotearon los gráficos de las relaciones lineales producto de cada una de las correlaciones antes mencionadas, observándose que la relación entre la salinidad del agua del cultivo y la concentración de vibrios es nula, al estar la línea de tendencia casi paralela al eje de las abscisas con una débil tendencia inversa, y presentar un coeficiente determinación (R^2) de 0,11%, lo cual indica la variabilidad de la concentración de vibrios en referencia a la línea ajustada, tal cual se observa en la figura 22, en donde los datos se encuentran alejados de la línea ajustada. La ecuación del modelo ajustado se encuentra representada como: $\text{Vibrios Totales} = 4548,26 - 13,6975 \cdot \text{Salinidad}$.

Figura 22. Relación lineal Salinidad vs Concentración total de vibrios



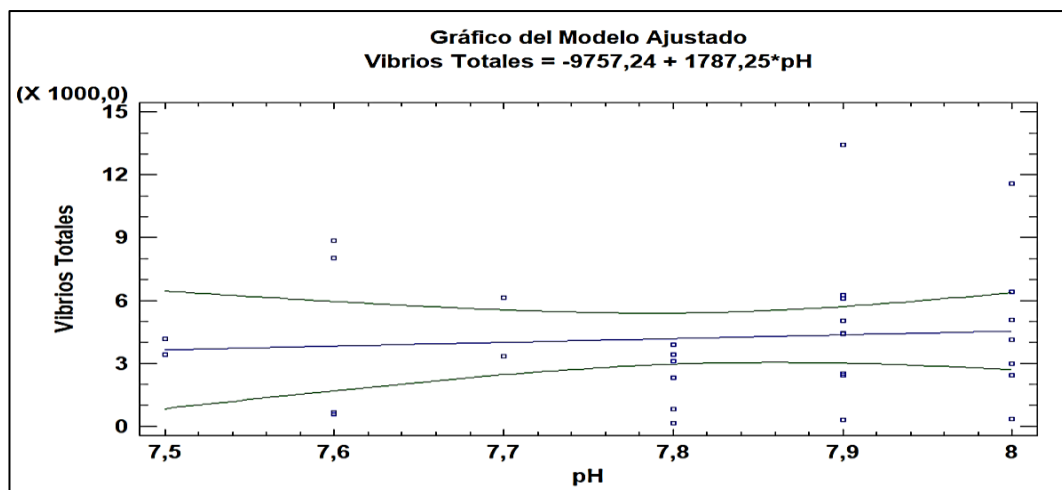
Continuando, se analiza mediante la figura 23 la relación entre la temperatura del agua del cultivo y la concentración de vibrios observándose que presenta una débil tendencia inversa con nula relación, al estar la línea de tendencia casi paralela al eje de las abscisas, y presentar un coeficiente determinación de 1,58%, lo cual indica la variabilidad de la concentración de vibrios en referencia a la línea ajustada. La ecuación del modelo ajustado se encuentra representada como: $\text{Vibrios Totales} = 29680,6 - 805,556 \cdot \text{Temperatura}$.

Figura 23. Relación lineal temperatura vs Concentración total de vibrios



Finalmente, se analiza por medio de la figura 24 la correlación existente entre el potencial Hidrogeno (pH) presente en el agua y la concentración de vibrios, observándose que presenta una débil tendencia directa, con nula relación, al estar la línea de tendencia casi paralela al eje de las abscisas, y presentar un coeficiente de determinación de 0,77 %, lo cual indica la variabilidad de la concentración de vibrios en referencia a la línea ajustada. La ecuación del modelo ajustado se encuentra representada como: $\text{Vibrios Totales} = -9757,24 + 1787,25 \cdot \text{pH}$.

Figura 24. Relación lineal pH vs Concentración total de vibrios



Al finalizar cada corrida se determinaban las variables de sobrevivencia, biomasa, Factor de conversión alimenticia y la cantidad de larvas por gramo (PI/G) que había producido cada tanque en tratamiento, obteniéndose los siguientes resultados.

Biomasa.

La biomasa obtenida durante el estudio entre los 3 tanques a prueba fue de 32,82 Kg. En cuanto al promedio de biomasa por tratamiento, se evidencia que en el tanque al cual se le aplicó el Probiótico “A” obtuvo un mayor rendimiento con un promedio de 6,91 Kg, mientras que el tanque con el tratamiento control presentó un menor promedio de Kg de biomasa de larvas de *L. vannamei* con 4,57, tal cual se observa en la tabla 9. Aplicando la prueba de Kruskal-Wallis, se pudo constatar que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de tratamiento, dado que se obtuvo un valor-P de $0,102 > \alpha (0,05)$ De la misma manera, se analizó el comportamiento de los datos con respecto a cada ciclo de prueba, obteniéndose un valor-P de $0,83 > \alpha$, concluyendo que las medianas de los datos no difieren una de otra.

Tabla 8. Biomasa obtenida referente a los ciclos de producción por tratamientos

	CICLO 1	CICLO 2	PROMEDIO
T0 (Control)	4,37	4,78	4,58
T1 (Pro-A)	6,62	7,20	6,91
T2 (Pro-B)	4,94	4,91	4,93
Promedio	5,31	5,63	5,91

Analizando el comportamiento de la biomasa por tratamiento dentro de cada ciclo, se puede evidenciar que la tendencia se asemeja en ambos ciclos de producción. donde el Probiótico “A” obtuvo una mayor biomasa, mientras que el tanque que se trató con el Probiótico control obtuvo la menor cantidad de biomasa en ambos ciclos.

Sobrevivencia

En cuanto a la sobrevivencia al final de los dos ciclos se obtuvo que, los tanques tratados con el probiótico “A” presentaron una sobrevivencia promedio del 80,6 % seguida de los tanques donde se aplicó el tratamiento con el probiótico “B” con 74,2%, por último, con una sobrevivencia del 58,2 %, se encuentran los tanques donde se aplicó el tratamiento control. Aplicando la prueba de Kruskal-Wallis, se evidenció que no existe diferencia significativa entre las medianas de los valores, con un valor-P de $0,102 < \alpha$ y un nivel de confianza del 95%. De la misma manera, se corroboró que no existe diferencia significativa entre las medianas de la sobrevivencia entre los ciclos, con un valor-P de $0,52 > \alpha$. Revisando el comportamiento de los datos en la tabla 10, se observa que la sobrevivencia del tanque tratado con el probiótico “A”, es mayor en ambos ciclos de estudio con un porcentaje $\geq 78,7\%$; de la misma forma que, los tanques con el tratamiento control presentan la menor sobrevivencia con un porcentaje $\leq 60,8\%$.

Tabla 9. Sobrevivencia final obtenida referente a los ciclos de producción por tratamientos

	CICLO 1	CICLO 2	PROMEDIO
T0 (Control)	55,58	60,84	58,21
T1 (Pro-A)	78,66	82,52	80,59
T2 (Pro-B)	73,31	75,01	74,16
Promedio	69,18	72,79	77,38

Factor de conversión alimenticia

El FCA, se analiza de manera inversa, dado que a menor FCA mayor habrá sido la eficiencia del tanque de producción; en relación con esta característica de la variable se puede indicar que el tanque donde se aplicó el tratamiento con el probiótico “A” presentó mayor eficiencia, puesto que el indicador obtuvo un promedio entre los dos ciclos de 2,17 a diferencia de los dos tratamientos restantes que estuvieron un punto por encima. Aplicando la prueba de Kruskal-Wallis se evidenció que no existe, con un 95% de nivel de confianza, diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los datos procesados (valor-P= 0,102).

Del mismo modo, se corroboró que no existe diferencia significativa entre las medias del factor de conversión alimenticia entre los ciclos, con un valor-P de $0,83 > \alpha$. Revisando el comportamiento de la tabla 11, se observa la eficacia del tanque tratado con el probiótico “A”, al obtener en ambos ciclos indicadores de FCA de 2 puntos, mientras que los tanques con el tratamiento control y el probiótico “B” presentan menor eficacia de conversión alimenticia con valores superiores a 3.

Tabla 10. Factor de conversión alimenticia referente a los ciclos de producción por tratamientos

	CICLO 1	CICLO 2	PROMEDIO
T0 (Control)	3,44	3,14	3,29
T1 (Pro-A)	2,27	2,08	2,17
T2 (Pro-B)	3,04	3,05	3,05
Promedio	2,91	2,76	2,61

Cantidad de postlarva por gramo (PL/G).

La cantidad de larvas por gramo obtuvo un mejor rendimiento en el tanque de producción tratado con el probiótico “A”, al presentar valores de 275 postlarvas/gramo. Realizando el análisis mediante la prueba Kruskal-Wallis de un solo factor, se determinó un valor-P de $0,095 < \alpha$, lo cual indica que no existe diferencia significativa entre las medianas de la cantidad de postlarva/gramo.

Para finalizar, se corroboró que no existe diferencia significativa entre las medias de la cantidad de postlarvas por gramo entre los ciclos, con un valor-P de $1,00 > \alpha$. Revisando el comportamiento de la tabla 12, se observa la eficacia del tanque tratado con el probiótico “A”, al obtener en ambos ciclos cantidades de PL/G de 280 y 270 respectivamente, mientras que los tanques con el tratamiento control (300 PL/G) y el probiótico “B” (>350 PL/G) presentan mayor cantidad de PL/G.

Tabla 11. PL/G final obtenido referente a los ciclos de producción por tratamientos

	CICLO 1	CICLO 2	PROMEDIO
T0 (Control)	300	300	300
T1 (Pro-A)	280	270	275
T2 (Pro-B)	350	360	355
Promedio	310	310	315

9. DISCUSIÓN

La industria del comercio ha creado productos a base de microorganismos (probiótico) como levaduras, bacterias acidolacticas y acidificantes, en conjunto con cepas de *Bacillus sp*, los cuales han generado resultados positivos en el crecimiento, sobrevivencia, asimilación de alimento, resistencia a infecciones, respuesta inmune, mejora de calidad de agua y rentabilidad de los cultivos de larvas de camarón (González & Montgomery, 2014; Suárez-Medina, 2024; Villamil-Díaz y Martínez-Silva, 2009).

En el país, se ha presentado una gran acogida hacia el uso de probióticos en las empresas camaroneras, tanto así que en una encuesta realizada (Manabí) el 89% de las granjas encuestadas indicó que utilizaba algún tipo de probiótico en su cultivo, dado al aumento de producción (Cedeño, 2007); de la misma forma, los laboratorios de larvas de camarón dentro de la provincia utilizan diversos probióticos comerciales presentes en el mercado, sin embargo existe poca información publicada, sobre los efectos y beneficios de estos sobre la producción local.

Además, Waters & Bassler en su estudio realizado en 2005 indican que la acción de probióticos es célula contra célula, por lo que coincidiendo con el presente estudio ayuda a la mejora de los cultivos de diferentes especies.

Durante el presente ensayo, se utilizaron 3 tipos de probióticos, siendo el tratamiento control (T0) utilizado habitualmente por el laboratorio donde se realizaron las pruebas, Probiótico A (T1) y Probiótico B (T2), cuyos resultados indican que durante los dos ciclos prueba, el tratamiento control y el tratamiento 1 presentaron los mejores efectos en la inhibición de bacterias patógenas, sin embargo para el control de levaduras y bacilos fue el probiótico B, quien presentó mayor efectividad.

Como se hace mención en párrafos anteriores no existe bibliografía referente al uso de estos probióticos en sistemas de crianza de larvas de camarón, sin embargo, durante la fase de engorde se puede rescatar el trabajo realizado en una granja camaronera en Nicaragua, donde se realizó la comparación de un probiótico natural con uno comercial (T0), en el cual demostró que el probiótico comercial, presentó mejor crecimiento semanal (Amaya-Malta & Salinas-Terán, 2021). De la misma forma, en Honduras, se evaluó la acción de diferentes probióticos en los que se incluye el probiótico B, sobre índice de conversión alimenticia, peso promedio y biomasa del camarón blanco, concluyendo que las dosis de los probióticos establecidas no tuvieron ningún efecto sobre los parámetros medidos durante la fase experimental (López & Padilla, 2017).

10. CONCLUSIONES

Finalizado el ensayo, en donde se probó la eficacia de 3 probióticos en el control de bacterias durante dos ciclos de cultivo de larvas de *Litopenaeus vannamei*, se puede concluir lo siguiente.

- De los medios de cultivos utilizados para la lectura de concentración de unidades formadoras de colonias bacterianas, los recuentos en agar marino con las UFC cremas y naranjas, fueron significativamente mayores a los recuentos realizados en los otros tipos de agares en ambos ciclos productivos.
- Durante el ensayo y las pruebas estadísticas aplicadas en el presente trabajo, se corrobora que el probiótico control y el probiótico “A” presentaron los mejores resultados en cuanto al control o inhibición de bacteriana, dado que las medianas de los datos de concentración de UFC fueron los mas bajos durante la fase experimental, sin embargo, estos probióticos presentaron poca eficiencia en el control de levaduras y/o bacilos, dado que el probiótico “B” presentó una mayor eficiencia en la inhibición de este tipo de bacterias.
- De la relación realizada entre los parámetros fisicoquímicos (temperatura, salinidad y pH) que se controlan dentro del cultivo, con la concentración bacteriana de vibrios totales, se determinó que esta no se relaciona directamente, al presentar valores de correlación cercanos a cero.

- En cuanto a la biomasa, sobrevivencia, factor de conversión alimenticia y postlarva/gramo, se observó que los tanques a los que se los trató con el probiótico “A” se presentaron los mejores puntajes, seguidas del tratamiento control y por ultimo los tanques tratados con el probiótico “B”.

11. RECOMENDACIONES

Tomando en consideración los resultados obtenidos en esta investigación, se puede recomendar que:

- Suministrar los probióticos control y A en el cultivo de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), es una buena alternativa para inhibir la proliferación bacteriana, mejorando la producción y evitando las perdidas.
- Realizar más trabajos de investigación sobre el crecimiento y sobrevivencia bajo la administración de estos probióticos en otras densidades y regiones con la finalidad de afianzar datos.
- Se recomienda en trabajos futuros basados en probióticos realizar tinciones GRAM para identificación de colonias en Agar- Marino. Asimismo, se recomienda realizar un análisis PCR para identificación de UFC presentes en los tanques de producción.

12. Bibliografía

- Agar, B. S. (2015). BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol. *Procedimientos de control de calidad*. .
- Alonso, L. A., & Hernández, A. J. (2011). Crecimiento del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* cultivado en dos densidades de siembra en estanques de concreto con aeración (Doctoral dissertation).
- Amaya-Malta, G. N., & Salinas-Terán, E. M. (2021). Comparación del ritmo de crecimiento y sobrevivencia de *Litopenaeus vannamei* en sistema semi intensivo aplicando probióticos EPICIN 2G vs probiótico natural fermentado en la granja camaronera La Viejana (Febrero-Mayo 2021). *Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua*, 51.
- Arana, I., Orruño, M., & Barcina, I. (2016). Como Abordar y Resolver Aspectos Prácticos de Microbiología. https://doi.org/https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema_2._Metodos_basicos_de_enumeracion_de_microorganismos.pdf
- Argudo, A. R. (2023). *Subsecretaria de Calidad e Inocuidad - S.C.I.* . <https://doi.org/https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2023/02/LABORATORIO-DE-LARVAS-INTERNAS-HT-07022023.pdf>
- Barrero, L. (2016). Microbiología clínica. *EDITORIAL SÍNTESIS, S. A.* . <https://doi.org/https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>

- Barrero, L. (2016). Microbiología clínica. . *EDITORIAL SÍNTESIS, S. A.* .
<https://doi.org/https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>
- Bermúdez, A., N, N. H., G, N., & J., R. (2002). Libro rojo de invertebrados marinos de Colombia. *Bogotá: INVEMAR. Ministerio de Medio Ambiente.*, 110-112.
- Bioagar. (2018). Ficha tecnica Agar Cetrimide.
- Bioagar. (2021). Ficha Tecnica Agar Marino.
- Bioagar. (2021). Ficha Tecnica Agar MRS. 2.
- Boyd, C. E. (2003). Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. . *Aquaculture*, 226(1-4), 101-112.
- Broberg, C. A., Calder, T. J., & Orth, K. (2011). *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants. . *Microbes and infection*, 13(12-13), 992-1001.
- Cedeño, R. (2007). Probióticos y su aplicación en el cultivo de camarón en la zona norte de la provincia de Manabí. *CENAIM-ESPOL*, 134, 4.
- CHROMagar. (2021). Instructions for use. *CHROMagar Vibrio*, 1-5 (11).
<https://doi.org/www.CHROMagar.com>
- COFA. (2019). Ignorant Factors about *Litopenaeus vannamei*. *South-South Aquaculture and Fisheries Cooperation*.
<https://doi.org/https://ssaafc.tiikm.com/project/ignorant-factors-about-litopenaeus-vannamei/>
- CONDALAB. (2022). Ficha Tecnica Agar MRS.
- Cuéllar-Anjel, J. (2013). Tipos de Vibriosis.

- de Andalucía, J. (2010). *Atlas de Microorganismos Planctónicos Presentes en los Humedales Andaluces*.
- Diaz, R., Alonso-Urmeneta, B., Gamazo, C., & Lopez-Goñi, I. (2003). *Manual practico de microbiologia - 2b* ed. Masson*.
https://doi.org/https://buscaenbujajaen.es/discovery/fulldisplay?vid=34C BUA_UJA:VU1&docid=alma991003003249704994&lang=es&context=L&adaptor=Local%20Sea
- Dickinson, B. (2003). INSTRUCCIONES DE USO–MEDIOS EN PLACA LISTOS PARA USAR . *BD Triple Sugar Iron Agar*, 8-12.
- Dickinson, B. (2019). BD TCBS AGAR. *BD Triple Sugar Iron Agar*, 4-8.
- Douillet, P. &. (1993). Effects of marine bacteria on the culture of axenic oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) larvae. *The Biological Bulletin*, 184(1), 36-51.
- Dugassa, H., & Gaetan, D. G. (2018). Biology of white leg shrimp, *Penaeus vannamei*: Review. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 10(2), 5-17.
- Eraz, M. (2020). La Seguridad y salud ocupacional en el cultivo de camarón en laboratorio de maduración. *Journal of business and entrepreneurial studies*, 4(1).
- FAO. (1990). CHAPTER III: PROPERTIES, MANUFACTURE AND APPLICATION OF SEAWEED POLYSACCHARIDES - AGAR, CARRAGEENAN AND ALGIN. *Training Manual on Gracilaria Culture and Seaweed Processing in China*.

- FAO. (2002). National Aquaculture Sector Overview. Visión general del sector acuícola nacional - Ecuador. *National Aquaculture Sector Overview Fact Sheets*.
- FAO. (14 de 04 de 2024). *Fisheries and Aquaculture*.
<https://www.fao.org/fishery/en/countrysector/ec/es>
- Fernandes, S., & Kerkar, S. (2019). Bacterial probiotics over antibiotics. *Advances in Biological Science Research*, 215–232.
- Galaviz-Silva, L., Robles-Valdez, Sánchez-Díaz, R., Ibarra-Gamez, J. C., Gómez-Gil, B., & Molina-Garza, Z. J. (2021). Cepas de *Vibrio parahaemolyticus* que causan necrosis hepatopancreática aguda en camarón cultivado de Sonora, México y su resistencia a antibióticos. *Hidrobiológica*, 31(2), 111-123.
- Gao, J., Zuo, H., Yang, L., He, J. H., Niu, S., Weng, S., & Xu, X. (2017). Long-term influence of cyanobacterial bloom on the immune system of *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 61, 79-85.
- Gómez, G., & Parrales, J. (2019). Las exportaciones de camarón ecuatoriano y su incidencia en la balanza comercial, Periodo 2014-2018. Guayaquil, Ecuador. *Trabajo especial de grado de la Universidad de Guayaquil para optar al título de Economista*.
- González, Y., & Montgomery, Y. (2014). Efecto de la adición de ácidos orgánicos y probióticos sobre el crecimiento del camarón (*Litopenaeus vannamei*). *Universidad Técnica de Machala*.

- Gothwal, R., & Shashidhar, T. (2015). Antibiotic pollution in the environment: a review. *Clean–Soil, Air, Water*, 43(4), 479-489.
- Gullian, M., Thompson, F., & Rodriguez, J. (2004). Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 233(1–4), 1–14.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.013>
- Hasyimi, W., Widanarni, W., & Yuhana, M. (2020). Growth performance and intestinal Microbiota diversity in pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed with a probiotic bacterium, honey prebiotic, and synbiotic. *Current Microbiology*, 77(10), 2982–2990.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00284-020-02117-w>
- He, S. (2021). TSM Gerente de I+D para acuicultura de Evonik Industries, Alemania. *International Aquafeed*.
- Kobayashi, T. (1963). A new selective isolation medium for the *Vibrio* group; on a modified Nakanishi's medium (TCBS agar medium). *Bacteriol*, 18, 387-392.
- López, J. D., & Padilla, A. E. (2017). Evaluación de probióticos en engorde de camarón blanco en Choluteca, Honduras. *Doctoral dissertation, Zamorano, Escuela Agrícola Panamericano, 2017*.
- MCD LAB. (2022). Ficha Técnica Agar Sabouraud.
- Menz, A., & Bowers, A. (1980). Bionomics of *Penaeus vannamei* boone and *Penaeus stylirostris* stimpson in a lagoon on the Mexican Pacific Coast.

Estuarine and Coastal Marine Science , 10 (6): 685-697. .

[https://doi.org/10.1016/s0302-3524\(80\)80096-x](https://doi.org/10.1016/s0302-3524(80)80096-x)

Mora, M. E., & Nuñez, J. V. (2020). Diseño de un protocolo de evaluación de probióticos para camarón *Penaeus vannamei* basado en criterios de calidad. [*Escuela Superior Politécnica del Litoral*].

<https://doi.org/https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/50605>

Mora, M. E., & Nuñez, J. V. (2020). Diseño de un protocolo de evaluación de probióticos para camarón *Penaeus vannamei* basado en criterios de calidad [*Escuela Superior Politécnica del Litoral*].

<https://doi.org/https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/50605>

Morales Toruño, G. E., & Cortez Vanegas, R. D. (2015). Efecto de dos dietas: comercial 25% de proteína experimental 20% de proteína más melaza, sobre el crecimiento de los camarones juveniles *Litopenaeus vannamei* en sistema semi-intensivo.

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.*, 82pp.

Odds, F. C. (1991). Sabouraud ('s) agar. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 29(6), 355-359.

Olmos Soto, J. (2021). Feed intake improvement, gut microbiota modulation and pathogens control by using *Bacillus* species in shrimp aquaculture. . *World*

Journal of Microbiology and Biotechnology, 37(2). .

<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11274-020-02987-z>

Peñalosa-Martinell, D., Araneda-Padilla, M., Dumas, S., Martinez-Díaz, S., & & Vela-Magaña, M. (2021). The use of probiotics in larval whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production: A marginal analysis of bioeconomic feasibility. *Aquaculture Research*, 52(3), 943–951. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/are.14949>

Perez Farfante, I. (1971). Western Atlantic Shrimps of the Genus *Metapenaeopsis* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) with Descriptions of Three New Species. *Smithsonian Contributions to Zoology* , (79): 1-37. <https://doi.org/10.5479/si.00810282.79>

PROBACSA. . (2021). DWTB 800 PROBAC - Alimentación animal. .

.*PROBACSA*. . <https://doi.org/https://probacsa.com/producto/dwtb-800/>

Raja, S., Nandhini, E., Sahana, K., & Dhanakkodi, B. (2015). Beneficial and destructive effects of probiotics in aquaculture systems-A review. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*.

<https://doi.org/https://www.semanticscholar.org/paper/16d48a217a8254e03867242b47e6f459a8704d1f>

Rodgers, C. J., Mohan, C. V., & Peeler, E. J. (2011). The spread of pathogens through trade in aquatic animals and their products:. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 30(1), 241 256. <https://doi.org/https://doi.org/10.20506/rst.30.1.203>

- Sanz-Cervera, S. A. (1999). Prácticas de Microbiología. *Universidad de La Rioja. Servicio de Publicaciones.*
- Sanz-Cervera, S. A. (1999). Prácticas de Microbiología. . *Universidad de La Rioja. Servicio de Publicaciones.*
- Sotomayor, M. A., Reyes, J. K., Restrepo, L., Domínguez-Borbor, C., Maldonado, M., & Bayot, B. (2019). Efficacy assessment of commercially available natural products and antibiotics, commonly used for mitigation of pathogenic *Vibrio* outbreaks in Ecuadorian *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* hatcheries. *PLoS One*, 14(1), e0210478. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210478>
- Starssa. (2019). BENEFIQUE. . *Starssa.* .
<https://doi.org/https://starssa.com/productos/benefique/>
- 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. *Universidad Estatal Península de Santa Elena (Bachelor's thesis, La Libertad).*
- TM MEDIA. (2018). TM Media products Catalogue .
<https://doi.org/https://es.slideshare.net/slideshow/tm-media-products-catalog-2018-titan-media/108226946>
- Treعه, G. D., & Yates, M. E. (1993). Manual de laboratorio para el cultivo de larvas de camarón peneido.
- Trenkić, M., Babić, G. S., Randelović, M., Krstić, M., Radenković, M., & Tasić-Otašević, S. (2022). A case of mycotic keratitis due to *Fusarium* sp. with

- an undesirable outcome. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 16(04), 729-732.
- Trujillo, L. E., Rivera, L., Hardy, E., Llumiquinga, E. M., Garrido, F., Chávez, J. A., . . . & País-Chanfrau, J. M. (2017). Estrategias Naturales para Mejorar el Crecimiento y la Salud en los Cultivos Masivas de Camarón en Ecuador. *Bionatura*.
- Urresta, P. (2017). Evaluación de 2 probióticos comerciales como controladores de patógenos en tanques de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Guayas, Ecuador: *Universidad Católica de Santiago de Guayaquil*. <https://doi.org/http://repositorio.ucsg.ec/handle/3317/7712>.
- Valdes, C. E., Macías, E. B., Álvarez-González, C. A., Hernández, C. T., & Sánchez, A. J. (2013). Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) en cultivo intensivo. *Revista de Biología Tropical*, 61(3), 1215-1228.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 64(4), 655–671. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/mubr.64.4.655-671.2000>
- Vidal, J. M., Pessoa, M. N., Santos, F. L., Mendes, P. D., & Mendes, M. S. (2018). Probiotic potential of *Bacillus cereus* against *Vibrio* spp. in post-larvae shrimps. *Revista Caatinga*, 31(2), 495-503.

- Villamil-Díaz, L., & Martínez-Silva, M. (2009). Probióticos como herramienta biotecnológica en el cultivo de camarón: reseña. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR*, 38(2), 165-187.
- Zamora, P. D., Quiróz, C., & Quiñónez, E. (2005). Un enemigo marino silencioso: *Vibrio parahaemolyticus*. *Rev. Dig. Univ*, 6, 1-9.
- ZoBell, C. E. (1947). Marine bacteriology. *Annual review of biochemistry*, 16(1), 565-586.

13. ANEXOS

Figura 25. Agares usados como medio de cultivo.



Figura 27. Siembra de muestras



Figura 26. Cajas petri con los diferentes medios de cultivo



Figura 29. Control de muestras sembradas.

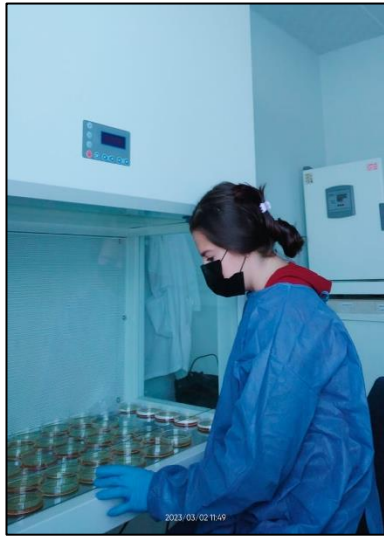


Figura 28. Conteo de UFC mediante aplicación del Probiótico control



Figura 30. Conteo y caracterización de UFC mediante aplicación del probiótico B

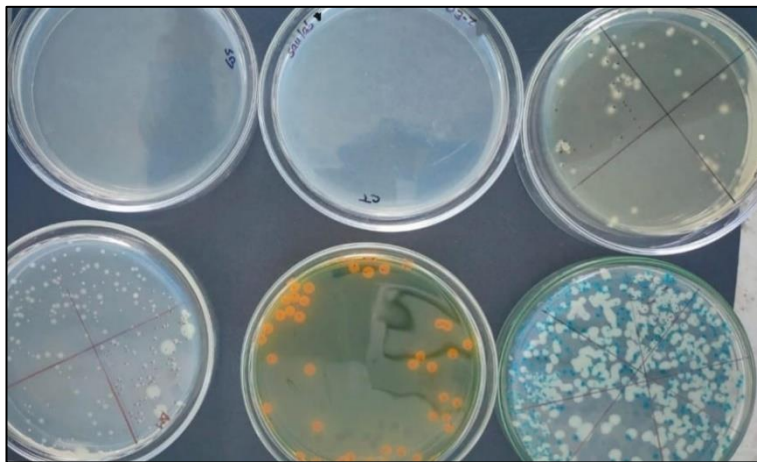


Figura 31. Conteo de UFC mediante de aplicación del probiótico A

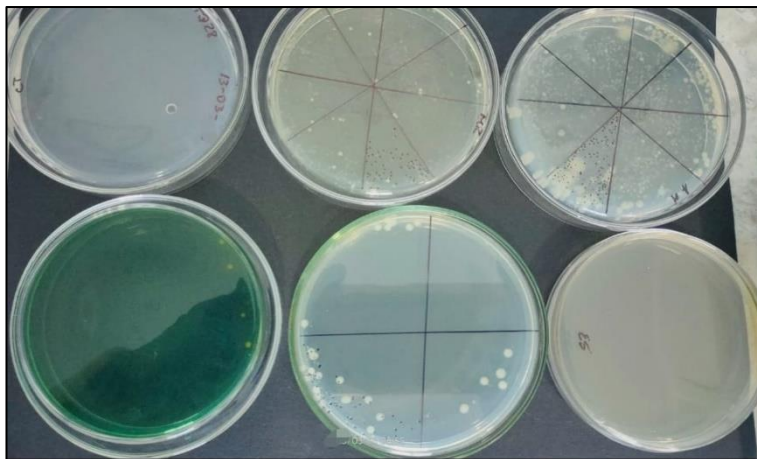


Figura 32. Conteo de UFC mediante de aplicación del probiótico A

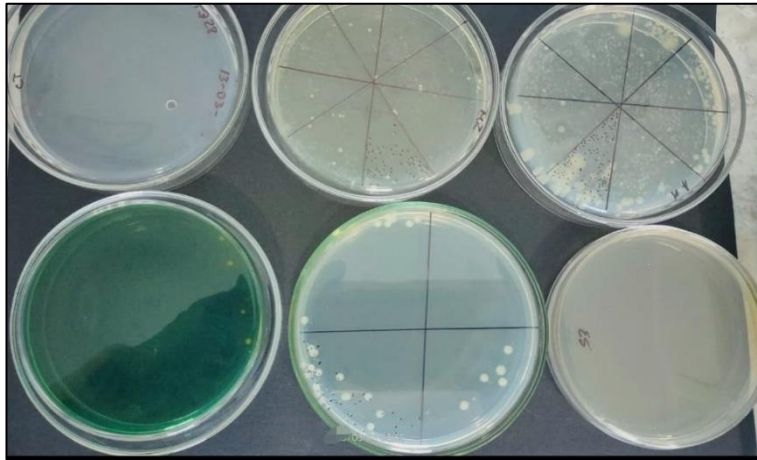


Figura 32: micropipetas y microscopio



Figura 33: conteo de colonias en los diferentes cultivos de agar



Figura 34: Muestras recolectadas en fundas de plásticas para el análisis microbiológico.



Figura 35: cocción del Chromagar



Figura 36: Día de cosecha.



Figura 37: Día de siembra.



Figura 38: Esterilizado de materiales e incubación



Figura 39: Contador de colonias.



Tabla 12. Recuento de unidades formadoras de colonias bacterianas en los diferentes medios de cultivo sembrados.

MEDIOS DE CULTIVO	UFC	CICLO	PRO-CONTROL					PRO-A					PRO-B				
			M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5
Agar Marino	Cremas	1	5,00E +05	5,01E +05	4,00E +05	4,00E +05	3,87E +05	7,00E +05	4,50E +05	5,80E +05	2,87E +05	3,24E +05	1,00E +06	1,70E +06	1,20E +06	1,56E +06	1,21E +07
		2	3,56E +05	3,33E +05	3,00E +05	4,69E +05	4,61E +05	4,32E +05	3,20E +05	2,00E +05	4,56E +05	7,80E +05	1,00E +09	1,11E +06	1,50E +07	1,23E +06	2,30E +05
	Naranjas	1	2,00E +04	6,00E +03	1,10E +04	1,30E +04	1,70E +04	2,30E +04	0,00E +00	2,30E +04	0,00E +00	2,30E +04	8,90E +04	5,70E +04	1,43E +05	2,30E +04	0,00E +00
		2	3,00E +03	2,90E +04	5,00E +03	0,00E +00	3,00E +03	0,00E +00	0,00E +00	4,00E +03	0,00E +00	0,00E +00	9,00E +08	0,00E +00	2,70E +04	0,00E +00	0,00E +00
Agar TCBS	Amarillas	1	5,00E +01	6,00E +01	1,30E +02	7,00E +01	1,50E +02	1,00E +02	0,00E +00	0,00E +00	5,00E +02	2,00E +02	3,00E +02	2,58E +03	1,45E +03	5,60E +03	5,67E +03
		2	6,00E +01	1,20E +02	5,00E +01	3,00E +01	1,00E +01	6,00E +01	2,20E +02	3,40E +02	3,20E +02	4,30E +02	6,78E +03	1,16E +03	3,90E +02	3,00E +03	2,39E +03
	Verdes	1	1,00E +01	3,00E +01	2,00E +01	2,00E +01	5,00E +01	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	2,30E +02	9,00E +02	8,30E +02	3,20E +02	2,30E +02
		2	1,00E +01	4,00E +01	1,00E +01	3,00E +01	3,00E +01	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	5,40E +03	9,20E +02	2,00E +02	7,00E +01	2,30E +02
Chromoagar Vibrios	Parahaemolyticus	1	2,00E +01	1,00E +01	2,00E +01	3,00E +01	6,00E +01	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	5,50E +02	1,92E +03	1,92E +03	2,30E +02	8,70E +02
		2	8,00E +01	0,00E +00	1,00E +01	5,00E +01	7,00E +01	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	2,30E +03	1,92E +03	4,50E +02	4,00E +01	2,50E +02
	Vulnificus	1	1,00E +01	2,00E +01	1,00E +01	9,00E +01	2,00E +01	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	1,00E +02	6,10E +02	6,50E +02	5,40E +02	8,00E +01
		2	3,00E +01	0,00E +00	1,00E +01	2,00E +01	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	1,25E +03	9,90E +02	5,00E +01	1,00E +02	1,20E +02
	Alginitolitycus	1	5,00E +03	2,41E +03	3,09E +03	4,32E +03	4,31E +03	8,00E +02	6,43E +03	1,40E +02	2,90E +02	3,43E +03	5,60E +03	2,53E +03	9,00E +03	5,34E +03	3,21E +03

MEDIOS DE CULTIVO	UFC	CICLO	PRO-CONTROL					PRO-A					PRO-B				
			M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5
		2	3,78E +03	3,00E +03	2,41E +03	3,29E +03	5,80E +02	2,50E +03	3,60E +02	5,70E +02	3,42E +03	2,30E +03	9,87E +03	1,23E +03	5,64E +03	8,72E +03	7,68E +03
Agar Cetrimide	Pseudomonas	1	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	1,00E +00	4,00E +00	0,00E +00	4,50E +01	6,00E +00
		2	1,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	2,30E +01	9,00E +01	0,00E +00	8,00E +00	0,00E +00
Agar Sauboraud	Hongos	1	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	1,00E +03	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	3,17E +05	7,00E +03	2,10E +04	2,00E +03	8,00E +03
		2	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	0,00E +00	9,00E +03	0,00E +00	0,00E +00	1,00E +03	4,00E +03
Agar MRS	Levaduras/bacilos	1	9,90E +05	9,06E +05	8,77E +05	7,98E +05	8,08E +05	9,80E +05	8,70E +05	9,00E +05	1,20E +06	8,90E +05	4,00E +03	1,00E +04	1,23E +05	9,60E +04	1,20E +05
		2	9,89E +05	9,00E +05	1,00E +06	9,96E +05	9,80E +05	1,00E +06	9,90E +05	9,69E +05	9,70E +05	9,00E +05	9,80E +04	8,00E +04	8,00E +04	2,40E +04	8,00E +04
TOTAL, DE UFC POR MONITOREO			2,87E +06	2,68E +06	2,60E +06	2,68E +06	2,66E +06	3,14E +06	2,64E +06	2,68E +06	2,92E +06	2,92E +06	1,90E +09	2,98E +06	1,66E +07	2,96E +06	1,25E +07
CONCENTRACIÓN TOTAL DE UFC			1,96E+09														