



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

TÍTULO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación comparativa de la eficacia de dos ácidos orgánicos en la inhibición de *Vibrios sp.* en el cultivo de larvas de camarón blanco *Penaeus vannamei*.

AUTOR

Blgo. Edison Roberto Valverde Prado

TRABAJO DE TITULACIÓN

**Previo a la obtención del grado académico en
MAGÍSTER EN ACUICULTURA**

TUTOR

PhD. Juan Diego Valenzuela Cobos

Santa Elena, Ecuador

Año 2025



UPSE

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO
TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos calificadores, aprueban el presente trabajo de titulación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por el Instituto de Postgrado de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

**PhD. Roxana Álvarez Acosta
COORDINADORA DEL
PROGRAMA**

**PhD. Juan Valenzuela Cobos
TUTOR**

**MSc. Richard Duque Marín
ESPECIALISTA 1**

**PhD. Verónica Andrade Yucailla
ESPECIALISTA 2**

**Ab. María Rivera González, Mgs.
SECRETARIA GENERAL
UPSE**



UPSE

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

CERTIFICACIÓN:

Certifico que luego de haber dirigido científica y técnicamente el desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por el cual apruebo en todas sus partes el presente trabajo de titulación que fue realizado en su totalidad por Blgo. Edison Roberto Valverde Prado, como requerimiento para la obtención del título de Magíster en Acuicultura.

Atentamente,

PhD. Juan Valenzuela Cobos
TUTOR



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Blgo. Edison Roberto Valverde Prado

DECLARO QUE:

El trabajo de Titulación, **Evaluación comparativa de la eficacia de dos ácidos orgánicos en la inhibición de *Vibrios sp.* en el cultivo de larvas de camarón blanco *Penaeus vannamei*** previo a la obtención del título en Magíster en Acuicultura, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Santa Elena, a los 02 días del mes de diciembre de año 2025

Blgo. Edison Roberto Valverde Prado
AUTOR



UPSE

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

AUTORIZACIÓN

Yo, Blgo. Edison Roberto Valverde Prado

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Estatal Península de Santa Elena, para que haga de este trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de la investigación con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este informe de investigación dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Santa Elena, a los 02 días del mes de diciembre de año 2025

Blgo. Edison Roberto Valverde Prado
AUTOR



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO

Certifico que después de revisar el documento final del trabajo de titulación denominado **Evaluación comparativa de la eficacia de dos ácidos orgánicos en la inhibición de *Vibrios sp.* en el cultivo de larvas de camarón blanco *Penaeus vannamei***, presentado por el estudiante, **Edison Roberto Valverde Prado** fue enviado al Sistema Antiplagio COMPILATIO, presentando un porcentaje de similitud correspondiente al 10%, por lo que se aprueba el trabajo para que continúe con el proceso de titulación.



Atentamente,

PhD. Juan Valenzuela Cobos
TUTOR

DEDICATORIA

El trabajo realizado en estos dos años de dedicación y esmero tiene como ξ a nuestro padre celestial Dios, que sin las virtudes que me designó no podría haber culminado este trabajo.

Mi familia fue eje principal y fortaleza para seguir sin decaer, mis padres y esposa con el apoyo incondicional, diariamente me dieron toda la inspiración para seguir con la tesis y finalizarla. Es el ejemplo perfecto para que las nuevas mentes sean influenciadas en la excelencia; y de esa manera mis hijos tendrán ese punto de inicio para ser mejor que su padre.

Mis hermanos me han enseñado que llegar al punto máximo académico nunca acaba, día a día el conocimiento se ve interrumpido con el avance y se renueva segundo a segundo para seguir perfeccionado nuestras capacidades, que es lo más importante de un profesional.

AGRADECIMIENTO

El subir los escalones del conocimiento nos enriquece la mente, pero siempre hay que considerar de donde inician subir esos peldaños y la manera de como tu agradeces a todas aquellas personas que de cualquier forma te han dado ese impulso que, por más ínfimo, consideres que pudo ser eje principal para poder seguir adelante con las metas que me he propuesto; El Ing. Carlos Pédola y esposa Blga. Claudina de la Torres que desde el inicio de mi decisión de comenzar esta nueva etapa de profesional, no dudaron en darme el apoyo para poder realizar la investigación en sus instalaciones y los colegas biólogos Arturo, Dayan, Andrea, Pedro, Paul, Lucero que siempre brindaron esa ayuda en todo momento.

ÍNDICE

TRIBUNAL DE GRADO.....	II
CERTIFICACIÓN:.....	III
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD	IV
AUTORIZACIÓN	V
CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO	VI
DEDICATORIA	VII
AGRADECIMIENTO	VIII
ÍNDICE.....	IX
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	XI
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	XI
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCCIÓN.....	1
PLANTEAMIENTO, FORMULACIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	6
OBJETIVO GENERAL.....	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
HIPÓTESIS	11
MARCO TEÓRICO	12
Camarón blanco del Pacífico (<i>Penaeus vannamei</i>)	12
<i>Clasificación taxonómica</i>	12
<i>Estadios</i>	12
<i>Importancia</i>	13
<i>Cultivo</i>	14
<i>Vibrios sp.</i>	16
<i>Clasificación taxonómica</i>	16
<i>Características</i>	16
<i>Patologías asociadas a Vibrios sp.</i>	16

Ácidos orgánicos	19
<i>Importancia acuícola</i>	20
<i>Grupo de ácidos orgánicos usados en larvicultura</i>	20
METODOLOGÍA	22
Enfoque de Investigación	22
Modalidad de Investigación	22
Alcance de Investigación	22
Instrumentos de recolección de datos	25
Materiales y Equipos	25
<i>Siembra de nauplios</i>	25
<i>Aclimatación de nauplios</i>	26
<i>Alimentación de postlarvas de Penaeus vannamei</i>	26
<i>Dosificación de ácidos orgánicos</i>	26
<i>Determinación de supervivencia de postlarvas de Penaeus vannamei</i>	27
Análisis bacteriológico	27
<i>Determinación de efecto inhibitorio en Vibrio sp.</i>	27
<i>Siembra de muestras de postlarvas.</i>	28
Análisis estadístico	29
<i>Relación de supervivencia con el efecto inhibitorio en Vibrio sp.</i>	29
RESULTADOS	31
Efecto de los ácidos orgánicos en la inhibición de <i>Vibrios sp.</i>	31
Determinación de la supervivencia de las postlarvas de <i>Penaeus vannamei.</i>	34
Determinación de la relación entre la capacidad inhibitoria de los ácidos orgánicos y la supervivencia de las postlarvas.	35
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
Conclusiones	37
Recomendaciones	39
BIBLIOGRAFÍA	40
ANEXOS	45

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado de antiplagio.	58
Anexo 2. Tabla de dosificación de balanceados.	58
Anexo 3. Tabla de dosificación de probióticos y prebióticos.	59
Anexo 4. Tabla de dosificación de alimento vivo.	59
Anexo 5. Tabla de dosificación de vitaminas y minerales.	60
Anexo 6. Tabla de dosificación de productos desinfectantes.	60
Anexo 7. Tabla de dosificación de reguladores y estabilizadores.	61
Anexo 8. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para una muestra.	62
Anexo 9. Prueba de Kruskal-Wallis.	62

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Análisis bacteriológico de las muestras en diferentes estadios del Laboratorio de Punta carnero.	46
Gráfico 2. Análisis bacteriológico de las muestras en diferentes estadios del Laboratorio de Puerto Cayo.....	47
Gráfico 3. Porcentajes de supervivencia final de todos los ensayos.	48
Gráfico 4. Correlación de Spearman de la supervivencia y la capacidad inhibitoria de los ácidos orgánicos.	50

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Ubicación del Laboratorio de Punta Carnero.....	36
Ilustración 2. Ubicación del laboratorio de Puerto Cayo.	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Dosificación de ácidos orgánicos en el cultivo de postlarvas de <i>Penaeus vannamei</i>	37
Tabla 2. Formato de registro de análisis bacteriológico.	42
Tabla 3. Interpretación del coeficiente de correlación de Spearman.	43
Tabla 4. Promedio y desviación estándar de la supervivencia final.	49

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA EFICACIA DE DOS ÁCIDOS ORGÁNICOS EN LA INHIBICIÓN DE *Vibrios sp.* EN EL CULTIVO DE LARVAS DE CAMARÓN *Penaeus vannamei*.

Autor: Blgo. Edison Roberto Valverde Prado

Tutor: PhD. Juan Diego Valenzuela Cobos

RESUMEN

Con el avance en la producción de *Penaeus vannamei* en medios controlados donde la proliferación de bacterias es un factor de riesgo, surgen en el mercado diversos productos, entre ellos, los ácidos orgánicos, que cumplen con una función bactericida, de fácil empleo y que representan menor riesgo al medio y salud de quien lo manipula. El trabajo constó en la comparativa de dos ácidos orgánicos (P1AS y P2AP) en la inhibición de *Vibrios sp.*, dosificándose en una corrida completa de producción larvaria, desde Mysis 1 hasta Postlarva 12, con 3 réplicas por producto a probar y 1 grupo control, en dos laboratorios (Punta carnero y Puerto Cayo) con un total de 14 ensayos. Los resultados obtenidos demostraron que el ácido orgánico 1 (P1AS) inhibió en mayor cantidad los *Vibrios amarillos*, *V. anginolyticus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus.*, del mismo modo, la mayor supervivencia se registró para los tanques suministrados con el ácido orgánico 1, alcanzando un porcentaje de supervivencia de 97.40 en ambos laboratorios, por último, la correlación establecida entre las especies del género *Vibrios* con la supervivencia es moderada y negativa, es decir, a mayor presencia de bacterias menor es la supervivencia final obtenida.

Palabras claves: Ácido orgánico, larvi cultura, *Penaeus vannamei*, *Vibrios sp.*

COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFICACY OF TWO ORGANIC ACIDS IN THE INHIBITION OF *Vibrios sp.* IN THE CULTURE OF SHRIMP LARVAE *Penaeus vannamei*.

Autor: Blgo. Edison Roberto Valverde Prado

Tutor: PhD. Juan Diego Valenzuela Cobos

ABSTRACT

With advances in the production of *Penaeus vannamei* in controlled environments where bacterial proliferation is a risk factor, various products have emerged on the market, including organic acids, which act as bactericides, are easy to use, and pose less risk to the environment and the health of those who handle them. The study consisted of comparing two organic acids (P1AS and P2AP) in the inhibition of *Vibrios sp.*, dosed in a complete larval production cycle, from Mysis 1 to Postlarva 12, with three replicates for each product to be tested and one control group, in two laboratories (Punta carnero and Puerto Cayo) with a total of 14 trials. The results obtained showed that organic acid 1 (P1AS) inhibited yellow *Vibrios*, *V. anginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, and *V. vulnificus* to a much higher degree. Similarly, the highest survival rate was recorded for tanks supplied with organic acid 1, reaching a survival rate of 97.40% in both laboratories. Finally, the correlation established between species of the genus *Vibrio* and survival is moderate and negative, that is, the higher the presence of bacteria, the lower the final survival rate obtained.

Keywords: Organic acid, larvi culture, *Penaeus vannamei*, *Vibrios sp.*

INTRODUCCIÓN

El proceso de la larvicultura en Ecuador es el eslabón principal en base a la publicado por CNA (2023) que menciona que la Dirección de Control Acuícola de la Subsecretaría de Acuicultura (DCA) para el 2023 tenía identificados a 361 laboratorios de larvas, siendo esta cifra mayor para 2025 incluyendo los laboratorios que operan de manera irregular, produciendo al final del ciclo aproximadamente una exportación anual de camarón de más de 1.211'644 millones de toneladas. Estos laboratorios se encuentran distribuidos en cinco provincias, mismas que son: Esmeraldas, Manabí, Santa Elena, Guayas y El Oro, siendo el mayor productor de post larvas de camarón la provincia de Santa Elena (Santos, 2023).

Una de las principales especies cultivables de interés mundial es el camarón *P. vannamei* (Reyes, 2018), esta especie ha tenido un rápido e intensivo aumento en su producción, lo cual ha llevado a limitaciones en la industria camaronera debido a problemas de estrés que limitan el crecimiento, potencializan enfermedades patológicas y no patológicas; aumentando en gran medida los recursos económicos invertidos en el proceso de producción (Dawood *et al.*, 2017). En algunos casos las enfermedades han sido generadas debido a las altas densidades de organismos en los estanques de cultivo que conllevan a una mala calidad de agua y/o suelos que hacen propicio el desarrollo de patógenos oportunistas.

Al mismo ritmo de que la industria ha ido en crecimiento y con el afán de llegar a tener cultivos con supervivencias altas y sin problemas bacterianos surgen en el mercado

productos comerciales como probióticos , aceites comerciales y ácidos orgánicos que reemplazan a los antibióticos, siendo estos amigables con el medio ambiente y las personas que los manipulan (Cortez, 2021). Los ácidos orgánicos llegan a ser de gran ayuda debido a que controlan, inhiben y radican altas cargas bacterianas presentes durante el ciclo larvario dosificando cantidades menores.

El uso de aditivos para mejorar la digestibilidad de los nutrientes es una herramienta importante que permite, gracias a la combinación de agentes emulsificantes naturales, ácidos orgánicos y factores digestivos, mayor aprovechamiento del alimento por *Litopenaeus vannamei* (Fajardo, 2013).

Es de suma importancia destacar que la mayor producción de postlarvas de *Penaeus vannamei* se encuentra concentrada en la provincia de Santa Elena, debido a que la mayor cantidad de laboratorios del país se encuentran ahí, específicamente en los sectores de Mar Bravo y Punta Carnero, y, en los últimos años se han ido extendiendo a otras comunidades como San Pablo y Palmar, entre otras, que se ubican a lo largo del perfil costero de la Provincia como indica Espinoza (2014), donde han sufrido en los últimos años altas pérdidas por mortalidades causadas por el *Vibrio parahaemolyticus*, responsable de múltiples enfermedades en el camarón en sus diferentes estadios, como el Síndrome de la mortalidad temprana, patologías que han conllevado a que el sector larvicultor se vea afectado económicamente. (Kumar *et al.*, 2017).

Los camarones peneidos son afectados por diversos patógenos presentes en el medio, con los cuales conviven e interactúan en los estanques, pero muchos de estos

microorganismos son oportunistas por lo que aprovechan vulnerabilidades del crustáceo, como estrés o lesiones para causar afecciones en el organismo.

Sistemas elaborados con diversos productos profilácticos han sido los más utilizados para reemplazar a los antibióticos, en esta fase se presentan productos como los ácidos orgánicos de cadenas cortas, aceites esenciales y probióticos, que demostraron su eficiencia como inhibidores de diversos patógenos en los primeros estadios a través de sus mecanismos de acción, sin embargo, gran parte de la información sobre el uso de estos productos en producción y su suministro se manejan como dosis recomendadas por las empresas de producción de insumos acuícolas (Murcia y Paz - Quevedo, 2020).

La información fluctúa entre los vendedores y los técnicos de laboratorio, las recomendaciones de dosificación son en su mayoría de interés comercial, que no son exactamente las dosis inhibitorias, sino mayores a la necesaria, Anangón (2014) indica que es complicado generalizar una dosis inhibitoria debido a que los efectos pueden variar completamente debido al tipo de ácido, el alimento sobre el que se dosifica, la especie o estadio del organismo. Torres (2015) resalta que entre las recomendaciones sugeridas se encuentran dosificaciones mayores a 15 o 20 ppm en sólidos o de 1 a 5 g/Tn en el medio de cultivo, no obstante, que dichas concentraciones pueden causar daños a nivel de tracto digestivo. Son estos daños internos los que vuelven susceptibles a los organismos a la exposición de microorganismos patógenos, sobre todo en estadios iniciales, impidiendo que las postlarvas coman y mueren por debilitamiento (Treece y Yates, 1993).

La aplicación de los ácidos orgánicos dentro de los protocolos en la larvicultura ha dado beneficios el estado de salud de las larvas, y la utilización de métodos para analizar el tipo de vibrios que se encuentren en las los tanques para su análisis con métodos de Cuéllar *et al.*, (2010), y con las cantidades mínima inhibidoras determinamos las cantidad precisas para mantener con salud y buena supervivencia en nuestro estudio (IDEEX, 2023).

Los ácidos orgánicos se dividen de cadena corta, volátiles o ácidos carboxílicos que han sido utilizados durante años como conservantes de alimentos para otras especies, han demostrado en una mejora del crecimiento, una correcta ingesta de nutrientes y la resistencia ante enfermedades. La funcionabilidad se basa en el tracto intestinal, donde inhiben el crecimiento de bacterias gran negativas que son las atraviesan la pared intracelular y libera los protones al citoplasma. Por ende, estas bacterias consumen una gran cantidad de adenosín tri fosfato (ATP) expulsando protones y en el intento de mantener el pH intracelular, su energía celular se reduce llevándola a la muerte (Dawood *et al.*, 2017).

La combinación de varios tipos de ácidos orgánicos ayuda a mejorar la salud digestiva y potenciar los efectos antibacterianos del organismo. Al usar estos compuestos se obtiene una mejor resistencia, inmunidad, mejoras de crecimiento y reducción de mortalidad, repercutiendo positivamente en los parámetros de producción.

En base a todo lo mencionado sobre las virtudes de los ácidos orgánicos que benefician en salud y supervivencia, con las cuales permite controlar y contrarrestar las

afectaciones frente a los microorganismos patógenos, en el sector acuicultor no se cuenta con una base de datos de sus usos y la dosificación correcta adecuada para ser incluido de una manera óptima como producto antimicrobianos, por esto el objetivo de este proyecto es evaluar la eficacia de dos ácidos orgánicos en la inhibición de *Vibrio* sp. y supervivencia durante el cultivo de larvas de *Penaeus vannamei*.

PLANTEAMIENTO, FORMULACIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

El estudio de las enfermedades bacterianas es de gran importancia en todas las fases y sistemas de producción de las especies de interés comercial, esto debido a que están presentes como resultado de la dinámica entre el medio y el huésped, donde al momento de existir un cambio brusco en parámetros físicos como temperatura o salinidad, los organismos entran en un nivel de estrés alto provocando que estos bajen sus defensas y sean vulnerables a la adherencia de diferentes bacterias, siendo la mayor prevalencia de estas bacterias en las fases larvarias, su incidencia en peneidos es alta en las primeras etapas de cultivo provocando mortalidades significativas a las 36 horas posteriores a su aparición (Cortez, 2021).

El autor Obando (2023) menciona que la presencia y brotes de enfermedades se da generalmente por la interacción entre los organismos y patógenos introducidos en los medios de cultivos, y esto se da ya sea por la transferencia accidental de organismos o alimento contaminados, incorrecto manejo de los protocolos y barreras sanitarias establecidos que genera una mala calidad de agua, altas densidades de siembra, nutrición inadecuada, entre otros, que proliferan diversas patologías como el síndrome de bolitas, síndrome de Zoea, hepatopancreatitis necrotizante (NHP) y el síndrome de mortalidad temprana (EMS). Entre los géneros responsables de estas patologías principalmente podremos encontrar: *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* los que han sido responsables de altas mortalidades, llegando a ser de un 100% en casos extremos, reflejando grandes pérdidas.

En la actualidad los sistemas de cultivo poseen protocolos de seguridad, en ellos se emplean medidas profilácticas para evitar fallas en el desarrollo de los organismos previniendo el estrés, enfermedades o mortalidad, sin embargo, poco se sabe sobre las comunidades bacterianas presentes en los sistemas acuícolas, la variabilidad de las mismas al pasar el tiempo y su resistencia a los diferentes productos que se comercializan en el medio acuícola (Zambrano, 2023).

Muñoz (2022) menciona que a pesar de la potencia de los antibióticos de amplio espectro, entre ellos, la enrofloxacin, cuya acción es bactericida contra las del género *Vibrio*, el uso de estos productos fueron prohibidos dentro de la acuicultura en cualquier etapa de la producción del camarón (maduración, laboratorio, criaderos o camaroneras), suceso que forzó a los productores de camarón a encontrar productos cuyo descarte sea amigable con el ambiente y con los sistemas de producción, pero que mantengan la misma eficacia en la inhibición y control de bacterias patógenas, incluyendo la capacidad de disminuir la resistencia antibiótica.

Hoy en día se conocen que los antibióticos, tienen un periodo de retiro muy largo en los tejidos, y se ha comprobado altos niveles de residuos en camarones comercializados, el abuso del uso de estas sustancias, también ocasionan propagación de bacterias, se ha comprobado bacterias resistentes a la tetraciclina, florfenicol y cloranfenicol, que pueden proliferar fácilmente en las piscinas que se han usado estos productos, ocasionando perjuicios en el medio ambiente, y afectación a los seres humanos como indica Sigüenza (2014), la misma dinámica ocurre en el sector de larvicultura en el perfil costanero de Santa Elena, Manabí, Esmeraldas, El Oro y Guayas.

Los ácidos orgánicos se presentan como respuesta a una necesidad de desarrollar alternativas que permitan reducir los medicamentos y químicos (antibióticos), buscando ser eficiente tanto con el alimento en su estabilidad como en el control de las patologías de origen bacteriano y viral que se producen en el cultivo de larvas de *Penaeus vannamei* que siguen causando colapsos en la acuicultura (Morán, 2017).

Los autores Escobar y Silva (2023) mencionan que se ha comprobado que los ácidos orgánicos promueven el crecimiento, destacándose principalmente en el control de patógenos intestinales y supervivencia de los animales. Así mismo, los autores Busti *et al.*, (2020) resaltan que los ácidos orgánicos son aditivos funcionales en los piensos acuícolas, por lo cual se ha podido demostrar que estos actúan disminuyendo el pH del alimento, lo que conlleva a una mayor higiene de este, a su vez, permite modular la actividad enzimática y el pH intestinal mejorando la digestión, regula la microbiota intestinal de los peneidos e intensifica y mejora la salud animal.

Los ácidos orgánicos pueden ayudar en la mejora del rendimiento de los cultivos, incrementando la eficiencia del uso y absorción de nutrientes, ajustando así el microbiota intestinal. La resistencia natural de una bacteria permite tener ventajas competitivas frente a otras cepas y sobrevivir en el ambiente, esta característica es adoptada cuando en los sistemas de cultivos se emplean antibióticos, esto en la actualidad es una medida criticada y no permitida debido a que causa problemas de salud en consumidores e incluso los residuos son completamente dañinos al medio ambiente. (Santos *et al.*, 2021) .

Es debido a esta alta susceptibilidad que presentan las postlarvas de *Penaeus vannamei* frente a infecciones bacterianas producidas por bacterias del género *Vibrio sp.* que el presente trabajo pretende evaluar la capacidad inhibitoria de dos ácidos orgánicos en el cultivo larvario de *Penaeus vannamei* a través de un enfoque experimental en el que se analizará el efecto en dosis de ambos productos tanto en la inhibición de bacterias como en la supervivencia de los organismos.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia de dos ácidos orgánicos en la inhibición de *Vibrio* sp. y supervivencia durante el cultivo de larvas de *Penaeus vannamei*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto de los dos ácidos orgánicos seleccionados en la inhibición de *Vibrio* sp. durante el ciclo de cultivo de larvas de camarón blanco *Penaeus vannamei* mediante cultivos microbiológicos.
2. Determinar la supervivencia final del *Penaeus vannamei* en cada ensayo y grupo control.
3. Relacionar la supervivencia final con la eficacia del ácido suministrado como agente inhibidor de *Vibrios* sp.

HIPÓTESIS

Pregunta científica:

¿El ácido orgánico A suministrado en el cultivo de postlarvas de *Penaeus vannamei* inhibirá más el crecimiento de *Vibrios sp.* y presentará mayor supervivencia comparado a la suministración del ácido orgánico B?

Variable dependiente: Supervivencia de postlarvas de *Penaeus vannamei* e inhibición de *Vibrios sp.*

Variable independiente: Ácidos orgánicos

Hipótesis:

Ha: El ácido orgánico A empleado en el estudio contralará mejor las altas cargas bacterianas producidas por *Vibrios sp.* obteniendo una mayor supervivencia y mejora en la salud en los organismos de los tanques de cultivo comparado al ácido orgánico B.

Ho: El ácido orgánico A empleado en el estudio no contralará mejor las altas cargas bacterianas producidas por *Vibrios sp.* obteniendo una menor supervivencia y salud en los organismos de los tanques de cultivo comparado al ácido orgánico B.

MARCO TEÓRICO

Camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*)

Clasificación taxonómica

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Sub – Phylum: Crustacea

Clase: Malacostraca

Orden: Decapoda

Superfamilia: Penaeoidea

Familia: Penaeidae

Género: *Penaeus*

Especie: *vannamei*

Nombre científico: *Penaeus vannamei*

Nombre vulgar: Camarón blanco (Boone, 1931)

Estadios

La FAO indica las siguientes características de cada uno de los estadios que conforman el ciclo de vida del camarón blanco del pacífico:

Nauplio. Este representa el primer estadio larvario posterior a la eclosión del huevo, este se divide a su vez en 5 subestadios naupliares con una duración total

de 40 a 50 horas, misma que se ve influida por la calidad del huevo, durante este periodo la larva muestra un cuerpo diferenciado y alcanza una longitud promedio de 0,5 mm y un ancho promedio de 0,2 mm. Durante esta fase larvaria, el organismo no es alimentado debido a que las reservas de vitelo le proporcionan la fuente nutricional necesaria.

Zoea. Culminada la fase de Nauplio, la larva entra en el estadio de Zoea, misma que se subdivide en 3 fases, con una duración total aproximada de 3 a 5 días dependiendo de la calidad del medio en el que se encuentre el organismo, estas subfases se caracterizan por presentar un abdomen diferenciado y el nado hacia adelante. En esta fase las larvas ya se pueden alimentar de microalgas, dietas líquidas y partículas microscópicas.

Mysis. Pasadas las subfases de zoea inicia la fase de mysis, esta se subdivide en 3 etapas, mismas que se caracterizan por la forma encorvada del cuerpo de la larva, el nado hacia atrás como respuesta a las contracciones musculares y la aparición de los pleópodos. Durante esta etapa la larva ya puede ingerir alimento vivo, como los rotíferos, artemia y copépodos.

Postlarva. En esta fase ya se distinguen las características morfológicas propias de un camarón juvenil, durante este periodo en cultivos cerrados se agrega en la alimentación dietas artificiales debido al elevado costo que representa la dieta viva.

Importancia

Su principal importancia radica en su interés comercial, Cobo y Pérez (2018) indican que el camarón blanco es reconocido como la especie más cultivada en el mundo debido a su

alto rendimiento y por presentar elevados predios en el mercado internacional, lo cual la hace fundamental para la industria acuícola, contribuyendo en un 55% a la producción mundial. Referente a la especie, Cuzon *et al.*, (2004) menciona que más del 90% del camarón cultivado en América es *Penaeus vannamei*, en Ecuador, *P. vannamei* es la especie más cultivada debido su adaptación a las condiciones ambientales en cautiverio y el rendimiento obtenido, lo que ha generado una gran demanda en el mercado internacional.

Cultivo

El cultivo de postlarvas de *Penaeus vannamei* es de las fases más importantes durante la producción del camarón blanco, esta consiste en la siembra y alimentación de nauplios previamente obtenidos de un centro de maduración.

Fases. Cuéllar *et al.*, (2010) indica que las fases del cultivo larvario son: presiembra, siembra y cosecha; en esta primera fase, es donde se prepara el estanque o lugar donde se realizará la siembra de nauplios, donde se toman en cuenta los parámetros de cultivo como densidad de siembra, salinidad, temperatura, luminosidad y desinfección del medio y materiales; en la segunda fase, se realiza la siembra de nauplios en un medio adecuado, durante toda esta fase se dosifica diferentes alimentos (balanceados, probióticos, vitaminas, etc.) y se lleva un estricto control de los parámetros físico – químicos; por último, durante la cosecha las postlarvas de camarón son colectadas con el uso de chayos para su posterior traslado a la camaronera donde continuarán las fases de pre-juvenil, juvenil y adulto.

Sistemas. Los tipos de sistemas de cultivo se clasifican en base a la densidad y control de las condiciones de cultivos, las cuales son: extensivo, semi – intensivo,

intensivo e hiper – intensivo. El sistema extensivo hace referencia a un cultivo en medios naturales con densidades bajas; el sistema semi – intensivo a cultivos en sistemas en tanques o estanques de diferentes dimensiones; el sistema intensivo a cultivos en estanques donde existe mayor control de los parámetros ambientales con densidades mayores; por último, el sistema hiper – intensivo se refiere a siembras con densidades muy elevadas en un medio totalmente controlado.

Parámetros. Para este tipo de cultivos es necesario controlar parámetros, siendo clave los parámetros que abarcan y aseguran la calidad del agua, como lo son: temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, amonio y otros compuestos. La temperatura, esta influye significativamente en el comportamiento del camarón, variando entre los 20 a 30°C; la salinidad, esta varía según el tipo de cultivo, abarcando medios con 25 a 35 ppt; el pH, este parámetro es medido en un rango de 0-7, para estos cultivos el rango óptimo es de 7.5 a 8.5, debido a que un aumento o baja de pH puede reducir el crecimiento al influir en el metabolismo de los organismos e incluso causar mortalidades; oxígeno disuelto, es uno de los factores más importantes, en cantidades bajas produce estrés en el camarón, debido al sistema cerrado de cultivo, es primordial que se realicen recambios que ayuden a la oxigenación del medio; amonio, este compuesto debe encontrarse en bajas concentraciones, porque una concentración mayor a 1 puede ser letal para los organismos (Pulgarin, 2022).

Vibrios sp

Clasificación taxonómica

Reino: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Vibrionales

Familia: Vibrionaceae

Género: *Vibrio*

Características

Este género de bacterias acuáticas móviles, generalmente de ambientes marinos o salobres, consta de más de 100 especies, son Gram – negativas en forma de bastón o coma, en su mayoría son oxidasa – positivas, a su vez, son anaerobias facultativas, lo que indica que bajo ciertas condiciones pueden sobrevivir en presencia o ausencia de oxígeno.

Patologías asociadas a Vibrios sp.

Estos organismos de vida libre se encuentran estrechamente relacionados con diversas especies acuáticas de cultivo, a pesar de que la mayoría de especies de este grupo no son patógenas, existen algunas especies que lo son y causan una variedad de enfermedades vibrióticas en animales acuáticos, estas enfermedades son atribuidas generalmente a las

especies *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae* (Das y Kungwani, 2022).

Los camarones y otros crustáceos son altamente susceptibles a la vibriosis en todas sus etapas de vida, sin embargo, son las etapas tempranas de su ciclo (zoea, mysis, portlarva y juveniles) donde son más susceptibles debido a un sistema inmunitario no desarrollado, entre las principales enfermedades atribuidas al género *Vibrio* se encuentran las siguientes:

Necrosis Hepatopancreática Séptica (SHPN). Esta enfermedad es una infección bacteriana grave a veces confundida con la Necrosis Hepatopancreática Aguda, es producida por cepas específicas de las especies de *V. parahaemolyticus*, *V. campbelli*, *V.harveyi*, *V. owendii* y *V. punensis*, se desencadena por factores de estrés como una nutrición inadecuada y mala calidad del medio de cultivo, se caracteriza en su fase inicial por la opacidad muscular y el intestino vacío, en su fase aguda se produce una inflamación del hepatopáncreas, bioluminiscencia y expansión de cromatóforos rojos, lo que produce un color rojizo intenso en el organismo, esta patología ha causado mortandades masivas en poblaciones de cultivo de camarón blanco, encontrándose tanto en el camarón como en el agua (Enfermedad del camarón (bacteriana) - Necrosis hepática pancreática aguda, 2025).

Necrosis Hepatopancreática Aguda (NHPA). Este síndrome antes conocido como síndrome de mortalidad temprana (SMT) es una infección bacteriana grave que provoca una mortalidad masiva en camarones de cultivo, esta enfermedad

puede ser producida por las especies de *V. campbelli*, *V.harveyi*, *V. parahaemolyticus* y *V. owensii*, siendo el principal el *V. parahaemolyticus*, mismo que produce una toxina binaria letal que es transferida a través de los plásmidos, permitiendo el daño del hepatopáncreas del camarón, los signos clínicos visibles son crecimiento lento, anorexia, natación errática, letargo, hepatopáncreas atrofiado, tracto gastrointestinal vacío, esta enfermedad se divide en tres fases, la primera (inicial) se caracteriza por un alargamiento de las células epiteliales hepatopancreáticas y reducción de las vacuolas, en la segunda fase (aguda) se observa la necrosis del epitelio tubular y descamación masiva y progresiva de las células epiteliales tubulares, para este punto el patógeno aún no es detectado, por último, en la tercera fase (terminal) se produce una respuesta inflamatoria significativa, necrosis de todo el epitelio tubular y melanización (Santos *et al.*, 2019),

Síndrome de Zoea II. Esta enfermedad también conocida como Síndrome de las Bolitas (LBS), es una enfermedad que afecta especialmente los estadios de zoea y mysis, en especial la etapa larvaria de Zoea II, se caracteriza por la ausencia de muda, alteración en la metamorfosis, letargo, nado errático, reducción en la tasa de alimentación donde se puede observar el intestino vacío y un color blanquecino externo, es producida por las especies de *V. alginolyticus*, *V. campbelli*, *V.harveyi*, *V. mimicus* y *V. parahaemolyticus* (Kumar *et al.*, 2017).

Síndrome de verano. Este síndrome usualmente referido al síndrome de caparazón suelto (LSS) es una forma aguda de vibriosis sistémica, es de alta

virulencia y generalmente afecta en la fase de engorde, es producido por la especie de *V. nigripulchritudo*, entre los principales síntomas se encuentra el letargo y debilidad de los camarones afectados, nado errático, presentándose con mayor frecuencia durante los meses cálidos del verano, a su vez, múltiples factores influyen en la presencia de este síndrome, entre ellos se asocia a la mala calidad del agua por desequilibrios en los parámetros del agua, deficiencias nutricionales por una alimentación inadecuada o desequilibrada que carezca de minerales y vitaminas, estrés por fluctuaciones o exposición a contaminantes, e infecciones bacterianas previas o no tratadas correctamente (Newase, 2024).

Vibriosis luminiscente. Se da generalmente en las larvas de camarón, los signos clínicos externos de la infección son anorexia, larvas moribundas o muertas con una apariencia brillante, con colonización bacteriana en los apéndices de alimentación y cavidad oral, puede ser producido por las especies de *V. campbelli*, *V.harveyi* y *V. splendidus* (de Souza y Wan, 2021)

Ácidos orgánicos

Son compuestos orgánicos que poseen propiedades ácidas, estos se diferencian según la naturaleza de la cadena carbonada, propiedad de saturación o insaturación, característica sustituida o no sustituida y el número de grupos funcionales que posee, mismos que permiten su clasificación en ácidos monocarboxílicos (ácido acético, propiónico, fumárico, sórbico y benzoico), ácidos dicarboxílicos (ácido ascórbico, fumárico y succínico), ácidos alfa-hidroxiácidos (láctico, cítrico y málico) y ácidos de azúcar (glucónico y tartárico), estos compuestos son de bajo peso molecular (Chahardoli *et al.*, 2020)

Importancia acuícola

La importancia de estos productos radica en la mejora que produce en la salud de los organismos de interés comercial, del mismo modo la mejora de la calidad del agua, generalmente es suministrado como un aditivo en los balanceados u otros alimentos dosificados a los organismos, de esta manera reduce patógenos mejora la absorción de nutrientes y reduce el uso de antibióticos que no son permitidos para su uso en producciones de cultivo, por su naturaleza ácida, presenta una alta eficacia como antimicrobiano al poder penetrar en las células bacterianas y fúngicas.

Grupo de ácidos orgánicos usados en larvicultura

Ácido cítrico. Este ácido es generalmente utilizado como un agente acidificante en los alimentos para camarones en sus diversas fases de crecimiento, este favorece a la digestibilidad y absorción de nutrientes.

Ácido fórmico. Es ampliamente utilizado como conservante, sin embargo, también posee propiedades antimicrobianas y mantiene el pH del medio en un rango óptimo

Ácido fumárico. Al igual que la mayoría de ácidos orgánicos, este ácido presenta propiedades antimicrobianas, reduciendo el crecimiento de bacterias en el medio de cultivo a través de la reducción del pH intracelular de bacterias patógenas.

Ácido láctico. Es utilizado como regulador de la calidad del agua debido a su potencial para controlar el pH del medio de cultivo, a su vez, presenta propiedades

antibacterianas lo que ayuda a la prevención del desarrollo de diversos patógenos (Cordova, 2024).

Ácido málico. Aunque su uso es mayor en la agricultura, en un medio acuático favorece a la digestión y salud de los organismos, así mismo, regula el pH por su potencial como ácido dicarboxílico.

Ácido propiónico. Este ácido generalmente se dosifica junto con los balanceados o dietas secas con el fin de inhibir el crecimiento de bacterias u hongos en el alimento, a su vez, actúa como un buen conservante.

METODOLOGÍA

Enfoque de Investigación

El estudio se efectuó bajo un enfoque de investigación cuantitativo, debido al uso de herramientas de carácter matemático y estadístico para describir los resultados obtenidos en la fase experimental durante la evaluación de la eficacia de dos ácidos orgánicos en la inhibición del crecimiento de *Vibrios sp.* en el cultivo de postlarvas de *Penaeus vannamei*.

Modalidad de Investigación

El presente documento se realizó bajo el lineamiento del tipo de investigación experimental en base a la manipulación de las variables, debido al uso de un grupo control que permite comparar los resultados de los grupos donde es manipulada la variable independiente.

Alcance de Investigación

El trabajo se diseñó con el fin de evaluar la eficiencia de dos ácidos orgánicos en diferentes concentraciones en la inhibición de bacterias pertenecientes al género *Vibrios sp.* en el cultivo de postlarvas de *Penaeus vannamei*, siendo esta una especie de alto interés acuícola y comercial.

El estudio se desarrolló en 2 laboratorios, el primero, laboratorio localizado en Punta Carnero, Santa Elena, Ecuador, con coordenadas 2°18'37.3"S 80°53'44.8"W (Ilustración 1), el segundo, laboratorio localizado en Puerto Cayo, Manabí, Ecuador con coordenadas 1°18'12.2"S 80°45'59.2"W (Ilustración 2).

Ilustración 1.

Ubicación del Laboratorio de Punta Carnero.

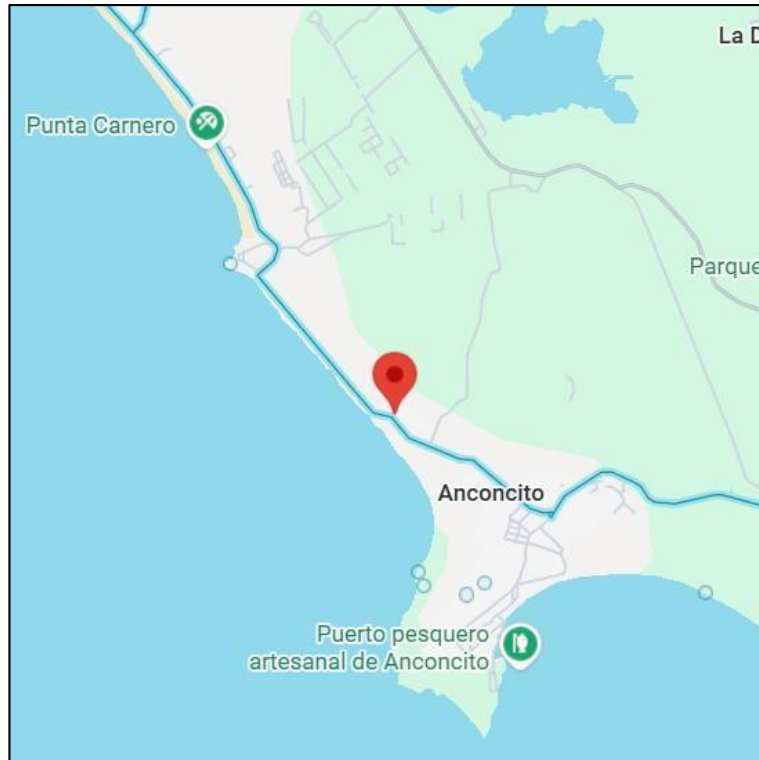
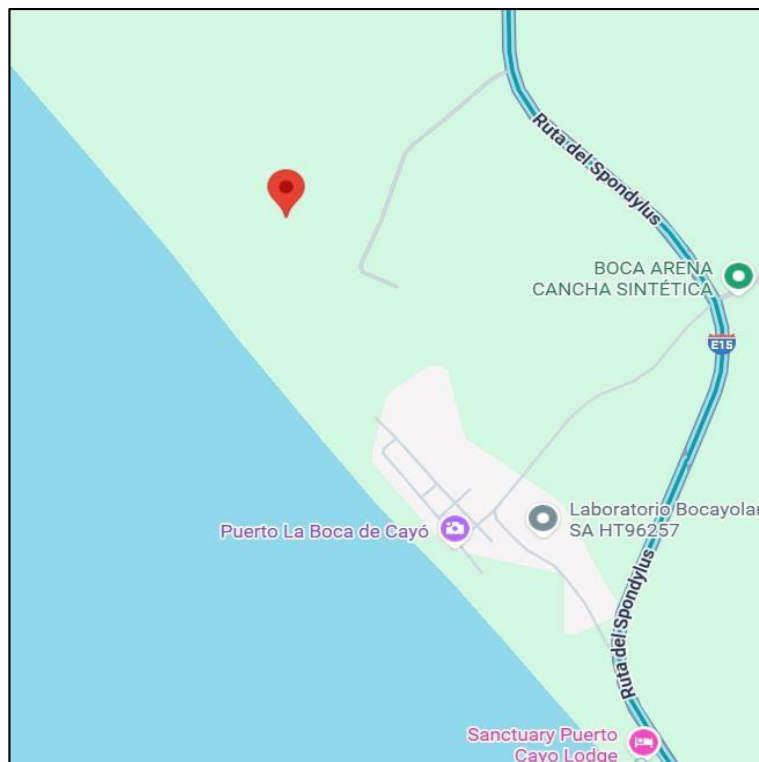


Ilustración 2. *Ubicación del laboratorio de Puerto Cayo.*



Para este estudio se utilizó un tanque control y 6 de prueba (3 réplicas para cada producto) en cada laboratorio, todas las postlarvas de *Penaeus vannamei* fueron sembradas con las mismas características, referentes a: densidad, parámetros físico – químicos, maduración, suministro de alimentos y de otros aditivos (probióticos, vitaminas, etc.). Los ácidos orgánicos fueron suministrados en diferentes cantidades en base la dosificación sugerida, concentración de producto y estadios de las postlarvas de *Penaeus vannamei*, por lo cual se establecieron las siguientes dosis, como se indica en la Tabla 1, para ambos laboratorios y ácidos orgánicos a suministrar.

Tabla 1. Dosificación de ácidos orgánicos en el cultivo de postlarvas de *Penaeus vannamei*.

Producto	ESTADIOS				
	N5 _ Z2	Z3 _ M2	M3 _ PL2	PL3 _ PL6	PL7- PL15
Ácido Orgánico A (P1AS)	1 ppm	1,5 ppm	2 ppm	3 ppm	5 ppm
Ácido Orgánico B (P2AP)					

La diferencia entre los productos P1AS y P2AP radica en las adiciones de su composición, ambos productos contiene como base de ácidos orgánicos al ácido cítrico, fumárico y málico, sin embargo, el ácido orgánico A (P1AS) contiene sales adicionales, como el formiato de calcio, propionato de calcio, acetato de sodio y butirato de sodio, mientras que el ácido orgánico B (P2AP) se encuentra adicionado con extractos vegetales, los cuales son un premix de *Origanum vulgare* (orégano) en polvo y excipientes de *Allium sativum* (ajo). El rango de dosis establecida en la tabla anteriormente mostrada indica su efecto como acción preventiva desde N5 a PL2, seguida de una dosis de acción curativa desde PL3 a PL15, esto debido al crecimiento de bacterias previamente registrado en múltiples siembras, donde las bacterias aumentan con los días de siembra que tienen los organismos.

Instrumentos de recolección de datos

Se realizaron diferentes registros, entre ellos los datos de supervivencia, crecimiento, alimentación suministrada, análisis bacteriológico.

Materiales y Equipos

- 14 tanques de siembra
- Liners
- Microscopio
- Generador
- Caldero
- Tuberías
- Blowers
- Agua a 33 ppt
- Cedazos
- Insumos (Dieta seca, líquida, vitaminas, probióticos y desinfectantes)

Producción de postlarvas de *Penaeus vannamei*

La fase de campo se encuentra comprendida desde la llegada de los nauplios de postlarva de *Penaeus vannamei* de la maduración hasta su cosecha o crecimiento en P112, y todos los procesos que se ejecutan dentro de ambos laboratorios.

Siembra de nauplios

Las siembras se realizaron el día 10 de marzo de 2025 en el Laboratorio 1 (Punta Carnero) y el día 20 de marzo de 2025 en el Laboratorio 2 (Puerto Cayo), los 7 tanques sembrados de cada laboratorio pertenecían a una misma maduración, con el fin de evitar sesgos durante los análisis.

Aclimatación de nauplios

A la llegada de las postlarvas de la maduración, se colocaron las bolsas desinfectadas aún cerradas en los tanques con un volumen de siembra de 20Tn de agua a 33 ppt y 32°C durante 60 minutos, pasado este tiempo de aclimatación donde el agua de la bolsa contiene la misma temperatura que el agua del tanque, las bolsas se abrieron con cuidado y las postlarvas de *Penaeus vannamei* se agregaron al tanque. Este proceso debe ser realizado con la finalidad de generar el menor estrés posible en los organismos.

Alimentación de postlarvas de *Penaeus vannamei*

Los protocolos para seguir referente a la adición de dieta seca, dieta líquida, alimento vivo, vitaminas, probióticos, desinfectantes e inmunoestabilizadores se encuentran en los Anexos 2 - 7. Este protocolo fue establecido para ambos laboratorios, en dosis en base a una densidad de siembra igual.

Dosificación de ácidos orgánicos

Para la dosificación de los ácidos orgánicos de interés, se siguieron la dosis establecidas en la Tabla 1, los productos fueron dosificados 1 vez al día, a las 09:00, la cantidad pesada se realizaba en base al volumen de agua de cada tanque, el cual se mantenía uniforme para todas las réplicas realizadas, a su vez, el tanque perteneciente al grupo control no fue dosificado con ninguno de los 2 productos, para realizar la comparativa bacteriológica y determinar si los ácidos orgánicos suministrados si tienen un efecto inhibitorio referente.

Determinación de supervivencia de postlarvas de *Penaeus vannamei*

Para determinar la supervivencia final obtenida en cada ensayo se realizaron conteos larvarios en el estadio PL12. El método más utilizado en esta fase es el método gravimétrico, el cual consta del cálculo de postlarvas de una cantidad determinada, en este caso un gramo, y su cálculo porcentual referente a la cantidad de nauplios sembrados (Saldarriaga, 1995).

Para determinar la cantidad total de postlarvas se pesa y contabiliza 1 gramo de postlarvas, siguiendo la presente fórmula:

$$PLT = PLG * BC$$

PLT: Postlarvas totales

PLG: Pelegramo (Postlarvas en un gramo)

BC: Biomasa cosechada

Posterior a esto, se utiliza la siguiente fórmula:

$$\%Sup = \frac{PLT}{NS} \times 100$$

%Sup: Porcentaje de supervivencia

PLT: Postlarvas totales

NS: Nauplios sembrados

Análisis bacteriológico

Determinación de efecto inhibitorio en *Vibrio sp.*

La fase de laboratorio se encuentra comprendida por la determinación de la inhibición de *Vibrio sp.* durante el cultivo larvario, para esto se realizaron análisis bacteriológicos de muestras de organismos de cada tanque seleccionado en el diseño experimental en los estadios de Mysis 1, Post larva 1, Post larva 6 y Post larva 12, del mismo modo, se tomó una muestra inicial de la llegada de muestras de nauplios en ambos laboratorios para

descartar una posible contaminación inicial, estos análisis se realizaron en el laboratorio Novagestion, ubicado en Salinas, sector Mar Bravo, con las siguientes coordenadas 2°14'34"S 80°57'05"W, en total 56 muestras fueron analizadas.

Siembra de muestras de postlarvas.

La siembra fue realizada en base a la metodología que Cuéllar *et al.*, (2010) menciona en su trabajo, el cual indica que primero se procede a esterilizar las pinzas en presencia de un mechero, luego, dentro de una cámara de flujo laminar, se toma un gramo de la muestra, misma que debe ser lavada con agua destilada para luego ser colocada una cantidad exacta en un tubo eppendorf, posterior con la ayuda de un macerador se procede a homogeneizar la muestra y realizar diluciones en caso de ser necesario, luego, en las placas Petri previamente preparadas con agar TCBS y CHROMOAGAR para el crecimiento de *Vibrios* se siembran 100 µl y se esparce la muestra por toda la placa con la ayuda de un asa de vidrio esterilizado y flameado, finalmente la placa sembrada es llevada a la incubadora a 32°C por un lapso de 24 horas.

Culminado el tiempo de incubación se realiza el conteo de las unidades formadoras de colonias, determinando la especie por la coloración de las UFC y registrando los datos en un formato (Tabla 2).

Tabla 2. *Formato de registro de análisis bacteriológico.*

Tipo de Ensayo	Datos de muestra			Vibrios		Ahornagar <i>Vibrio Sp.</i>			
	Ubicación	Nº de tanque	Estadio	Vibrio verde	Vibrio amarillo	<i>V. anginolitycus</i>	<i>V. parahaemolitycus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. cholerae</i>

P1AS	Punta carnero	1	Mysis 1
P1AS	Punta carnero	2	Mysis 1
P1AS	Punta carnero	3	Mysis 1
P2AP	Punta carnero	4	Mysis 1
P2AP	Punta carnero	5	Mysis 1
P2AP	Punta carnero	6	Mysis 1
Control	Punta carnero	7	Mysis 1

Análisis estadístico

Previo al análisis estadístico de los datos obtenidos, se realizó una prueba de normalidad, en este caso, al tener más de 50 datos, se utilizó la prueba de Kolmogorov (Anexo 8), mismo que reflejó que los datos no se ajustaron a una distribución normal, por lo consiguiente, se realizaron análisis no paramétricos.

Relación de supervivencia con el efecto inhibitorio en Vibrio sp.

Los valores obtenidos de la supervivencia y los resultados del análisis bacteriológico de las postlarvas en el estadio de PL12 fueron comparados para determinar si los grupos difieren previo a su análisis de correlación, para esto se utilizó la prueba de Kruskal - Wallis, misma que corresponde a una prueba no paramétrica del Análisis de Varianza (ANOVA) para datos no normales (ANEXO 9), en los resultados se determinó que los grupos no presentan diferencias significativas entre las medianas de los grupos.

Para determinar la correlación entre la supervivencia final obtenida con la capacidad inhibitoria de *Vibrios sp.* de los productos analizados, se utilizó un coeficiente de correlación paramétrico (Pearson), debido a la normalidad de los datos, mismo que permitió interpretar el grado de relación existente entre la calidad de la postlarva de cada

ensayo planteado con la supervivencia final obtenida. Todos los análisis estadísticos fueron efectuados en el software bioinformático IBM SPSS Statistics. En la Tabla 3 se muestra como se realiza la interpretación del grado de relación de los resultados obtenidos en el análisis.

Tabla 3. *Interpretación del coeficiente de correlación de Spearman.*

Rango de valores de rho	INTERPRETACIÓN
-1	Correlación negativa grande y perfecta
-0.9 a -0.99	Correlación negativa muy alta
-0.7 a -0.89	Correlación negativa alta
-0.4 a -0.69	Correlación negativa moderada
-0.2 a -0.39	Correlación negativa baja
-0.01 a -0.19	Correlación negativa muy baja
0	Correlación nula
0.01 a 0.19	Correlación positiva muy baja
0.2 a 0.39	Correlación positiva baja
0.4 a 0.69	Correlación positiva moderada
0.7 a 0.89	Correlación positiva alta
0.9 a 0.99	Correlación positiva muy alta
1	Correlación positiva grande y perfecta

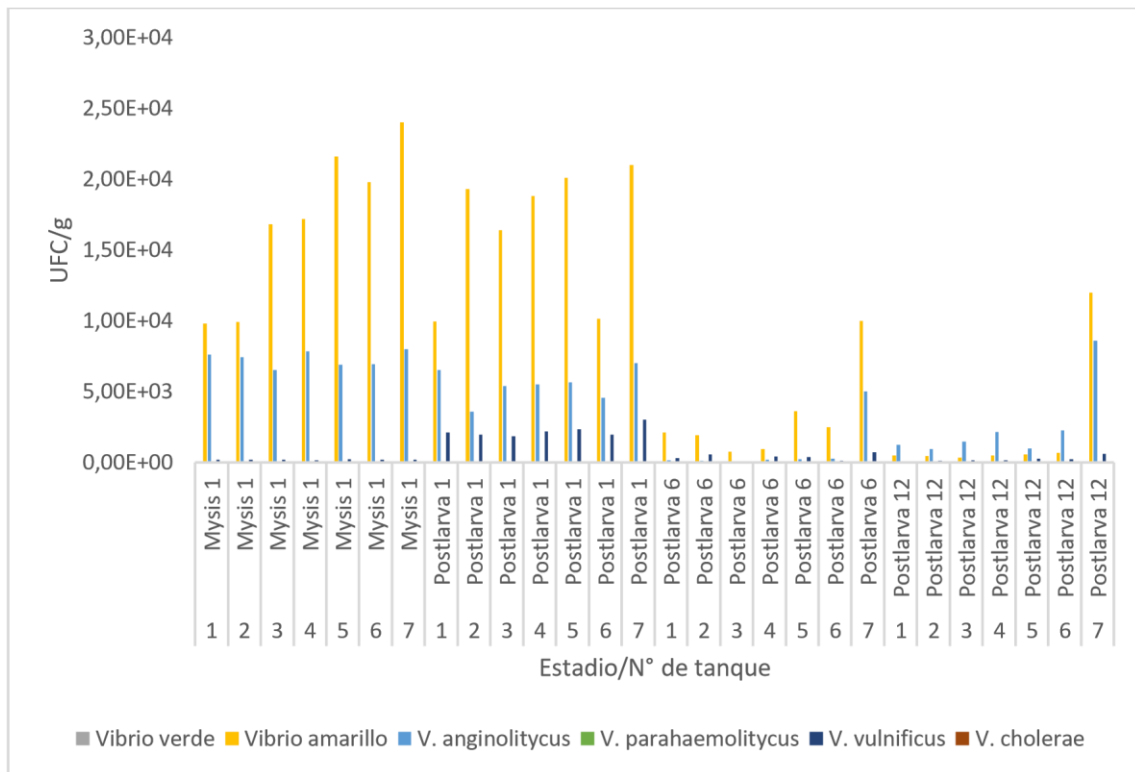
RESULTADOS

Efecto de los ácidos orgánicos en la inhibición de *Vibrios sp.*

Para el cumplimiento del primer objetivo, se tabularon los datos obtenidos de los análisis bacteriológicos realizados, en la Gráfica 1 se puede observar las barras de crecimiento de los conteos de UFC contabilizados en los dos tipos de agares utilizados, para cada estadio analizado de las postlarvas de *Penaeus vannamei* producidas en el laboratorio de Punta carnero, se distingue que el tanque 7, perteneciente al grupo control, es el que presenta la mayor cantidad de UFC/gr en cada uno de los estadios, para las 4 especies de *Vibrios* encontrados: alcanzando conteos de 2.40×10^4 UFC/gr en *Vibrios* amarillos, $8,6 \times 10^3$ en *V. anginolitycus*, y, 3.00×10^3 en *V. vulnificus*. Del mismo modo se puede observar que conforme avanzan los estadios, hasta el estadio de Postlarva 12, que es el día de cosecha, las cargas para los tanques del 1 al 3 (P1AS) y 4 al 6 (P2AP) van disminuyendo, mientras que los conteos del grupo control no inhiben lo suficiente, siendo menor los conteos en *Vibrios* amarillos y *V. anginolitycus* en el tanque 3 con un conteo de 3.2×10^2 UFC/g y 7.6×10 UFC/g, respectivamente, y, para *V. vulnificus* el conteo fue menor en el tanque 1 con un conteo de 6.0×10 UFC/g. Todos estos tanques pertenecientes a los ensayos del Ácido orgánico A (P1AS).

Gráfico 1.

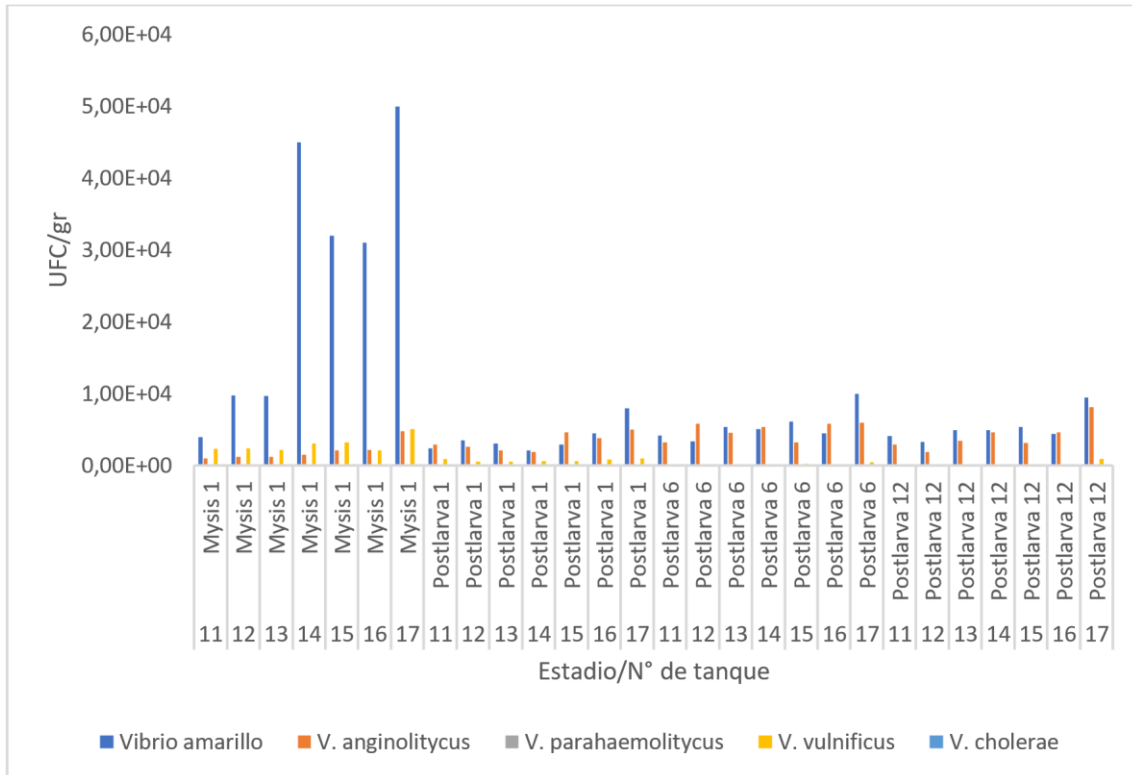
Análisis bacteriológico de las muestras en diferentes estadios del Laboratorio de Punta carnero.



Durante todos los análisis bacteriológicos, no se registraron UFC/g de *Vibrios* verdes y *V. cholerae*. Referente a las muestras analizadas provenientes del sector de Puerto Cayo, en el Gráfico 2 podemos observar una elevada carga de *Vibrios* amarillos para todas las muestras en todos los ensayos, siendo mayor para el grupo control, sin embargo, al llegar al estadio de Postlarva 1 esta carga baja significativamente, en el grupo control pasando de un conteo de 5.0×10^4 a 8.0×10^3 , no obstante esta carga se mantiene y aumenta para el grupo control, mientras que para los tanques del 11 al 13 (P1AS) y del 14 al 16 (P2AP) va decreciendo, lo cual se refleja como la inhibición de estas bacterias.

Gráfico 2.

Análisis bacteriológico de las muestras en diferentes estadios del Laboratorio de Puerto Cayo.



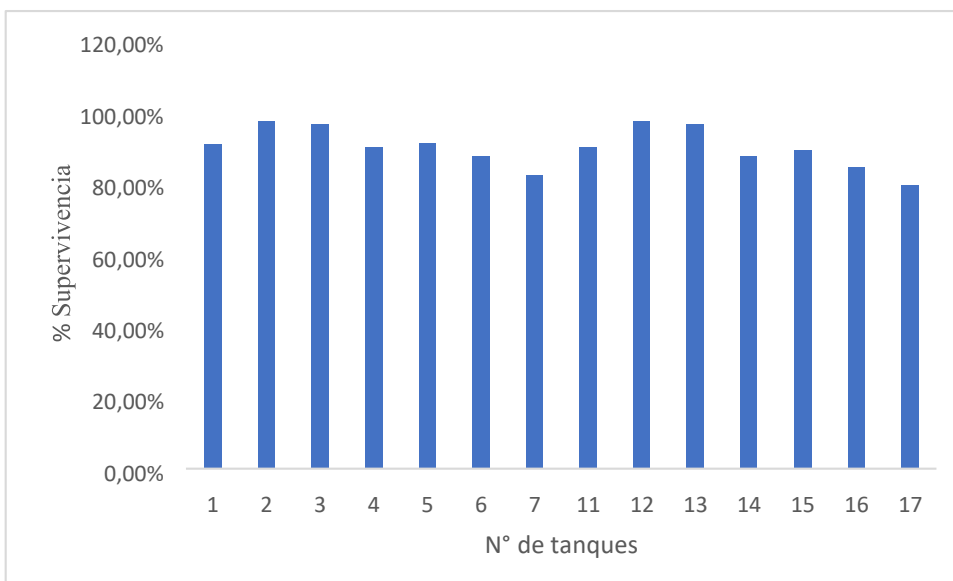
El conteo más alto de Vibrios amarillos se dio en el estadio de Mysis 1 para el tanque 17, correspondiente al grupo que no fue dosificado con ácidos orgánicos con un conteo de 5.0×10^4 UFC/g, mientras que el conteo más bajo se presentó en el estadio de Postlarva 1 en el tanque 14, perteneciente al grupo dosificado con el ácido orgánico B, con un conteo de 2.1×10^3 UFC/g. Para la especie de *V. anginolyticus* el conteo más bajo se refleja en el tanque 11, en el estadio de Mysis 1, con un total de 1.0×10^3 , y, por último, para la especie *V. vulnificus* el conteo fue menor en el tanque 13 con un conteo de 9.0×10 UFC/g, siendo el tanque 11 y 13 del grupo dosificado con el ácido orgánico A.

Determinación de la supervivencia de las postlarvas de *Penaeus vannamei*.

Para el cumplimiento del segundo objetivo, se determinó la supervivencia final, en el estadio de Postlarva 12 para cada réplica realizada en ambos laboratorios, en la Gráfica 3 se distingue que el porcentaje de supervivencia fue menor para el grupo control en ambos laboratorios, tanque 7 y 17, con porcentajes de 82.30 y 79.54, respectivamente, mientras que los porcentajes más altos de cada laboratorio se registraron en el tanque 2 y 12, con un porcentaje de 97.40 para ambos tanques.

Gráfico 3.

Porcentajes de supervivencia final de todos los ensayos.



En una comparación entre ensayos, en la Tabla 4 podemos distinguir que los promedios de los porcentajes de supervivencia no se encuentran muy alejados entre sí por laboratorio, teniendo en cuenta que el área en el que se encuentra el laboratorio no fue un factor relevante para la producción final, sin embargo, hubo mayor homogeneidad de datos en las supervivencias registradas en el Laboratorio de Punta carnero.

Tabla 4.

Promedio y desviación estándar de la supervivencia final.

Laboratorio	Promedio de porcentaje de supervivencia y desviación estándar
Laboratorio de Punta carnero	90.90±4.778
Laboratorio de Puerto Cayo	89.28±6.299

Determinación de la relación entre la capacidad inhibitoria de los ácidos orgánicos y la supervivencia de las postlarvas.

Como último punto, para el cumplimiento del tercer objetivo, se correlacionó la supervivencia obtenida en cada tanque con los resultados de los análisis bacteriológicos realizados en el estadio de Postlarva 12, obteniendo así en el gráfico 4 que existe una correlación negativa moderada entre la supervivencia con la presencia de Vibrios amarillos y *Vibrio vulnificus*, con coeficientes de correlación de -0.667 y -0.631, respectivamente, teniendo que a menor presencia de bacterias es mayor la supervivencia, del mismo modo, existe una correlación negativa alta entre la supervivencia y la presencia de *V. anginolyticus*, con un coeficiente de correlación de -0.792, determinando que a menor presencia de esta especie es mayor la supervivencia de las postlarvas sembradas.

Gráfico 4.

Correlación de Spearman de la supervivencia y la capacidad inhibitoria de los ácidos orgánicos.

Correlaciones

			VAMARILLO	WVULNIFICUS	VANGINOLYTI CUS	Supervivencia
Rho de Spearman	VAMARILLO	Coefficiente de correlación	1,000	,348	,889**	-,667**
		Sig. (bilateral)	.	,222	<,001	,009
		N	14	14	14	14
	WVULNIFICUS	Coefficiente de correlación	,348	1,000	,369	-,631*
		Sig. (bilateral)	,222	.	,194	,015
		N	14	14	14	14
	VANGINOLYTICUS	Coefficiente de correlación	,889**	,369	1,000	-,792**
		Sig. (bilateral)	<,001	,194	.	<,001
		N	14	14	14	14
	Supervivencia	Coefficiente de correlación	-,667**	-,631*	-,792**	1,000
		Sig. (bilateral)	,009	,015	<,001	.
		N	14	14	14	14

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. Durante el análisis del efecto de los dos ácidos orgánicos seleccionados para el estudio de la inhibición de *Vibrio sp.* en el ciclo de cultivo de postlarvas de *Penaeus vannamei*, se determinó que los organismos cultivados en ambos laboratorios (Punta carnero y Puerto Cayo) presentaron mayor inhibición de *Vibrio sp.* con el Ácido Orgánico A (P1AS), obteniendo los menores conteos de UFC/g en el estadio de postlarva 12, con registros de 3.2×10^2 UFC/g, 7.6×10^1 UFC/g y 6.0×10^1 UFC/g para Vibrios amarillos, *V. anginolitycus* y *V. vulnificus*, respectivamente, en el laboratorio de Punta carnero, mientras que en el laboratorio de Puerto Cayo los registros de menor conteo de Vibrios amarillos se presentaron en el estadio de Postlarva 1 con un conteo de 2.1×10^3 UFC/g con el ácido orgánico B (P2AP), sin embargo, para las especies de *V. anginolitycus* y *V. vulnificus* los conteos más bajos fueron 1.0×10^3 UFC/g y 9.0×10^1 UFC/g, respectivamente, ambos dosificados con el Ácido Orgánico A (P1AS). En ninguno de los análisis realizados se registraron Vibrios verdes y *V. cholerae*.
2. La supervivencia promedio más alta se registró en el Laboratorio ubicado en Punta carnero, con un promedio de 90.90 ± 4.778 , mientras que en el Laboratorio localizado en Puerto Cayo el promedio fue de 89.28 ± 6.299 , la supervivencia individual fue menor para ambos laboratorios en el grupo control, con porcentajes de 82.30 y 79.54, respectivamente, mientras que los porcentajes más altos de cada laboratorio se registraron en el tanque 2 y 12, con un porcentaje de 97.40 para ambos tanques, determinando así que la mayor supervivencia se reflejó en los tanques suministrados con el Ácido Orgánico A (P1AS).

3. Por último, referente a la correlación entre la carga bacteriana y la supervivencia final obtenida, se determinó que si existe una correlación moderada e inversa entre la supervivencia con la presencia de Vibrios amarillos y *Vibrio vulnificus*, con coeficientes de correlación de -0.667 y -0.631, teniendo que a menor presencia de bacterias es mayor la supervivencia, mientras que la correlación entre el *V. anginolyticus* y la supervivencia final obtenida es alta e inversa, con un coeficiente de correlación de -0.792, obteniendo del mismo modo que a mayor presencia de estas bacterias menor será la supervivencia final.

Recomendaciones

Comparar otros productos (ácido orgánico u otros desinfectantes o bactericidas) en diferentes dosis con la finalidad de determinar la concentración mínima inhibitoria previo a su uso fijo en producción.

Ampliar el análisis bacteriológico a otros géneros de interés acuícola, entre ellas bacterias pertenecientes al género *Aeromonas* y *Pseudomonas*, mismas que son responsables de diversas enfermedades que afectan al sector acuícola.

Relacionar la presencia de las bacterias de interés con otros parámetros físico – químicos, tales como la temperatura, salinidad, iones en el medio, pH, oxígeno, etc., para una mayor comprensión de la dinámica existente en un sistema de cultivo larvario.

BIBLIOGRAFÍA

- Anangonó, C. A. (2014). *Eficiencia del uso de ácidos orgánicos en camarón*. Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Boone, L. (1931). *Litopenaeus vannamei*.
- Busti, S., Rossi, B., Volpe, E., Ciulli, S., Piva, A., D'Amico, F., Parma, L. (2020). Effects of dietary organic acids and nature identical compounds on growth, immune parameters and gut microbiota of European sea bass. *Scientific Reports*, 10(21321). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78441-9>
- Chahardoli, A., Jalilian, F., Memariani, Z., Hosein Farzaei, M., y Shokoohinia, Y. (2020). Analysis of organic acids. En *Recent Advances in Natural Products Analysis* (págs. 767-823). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00026-3>
- CNA. (2023). *Actualidad De La Larvicultura En Ecuador*.
- Cobo Abrantes, R., y Pérez Jar, L. (2018). General aspects of culture and genetics of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 35(1), 18-23.
- Cordova, J. P. (2024). *Efecto de la aplicación de los ácidos orgánicos en el cultivo de camarón blanco Litopenaeus vannamei*. Universidad Técnica de Machala: Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Cortez, C. A. (2021). *Ácidos orgánicos y sus efectos antagónicos frente a endoparásitos de Litopenaeus vannamei, mediante aplicación de dos tratamientos comerciales en cultivos de isla Matorillo, Guayaquil*. La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2021.

- Cuéllar, J., Lara, C., Morales, V., De Gracia, A., y García, O. (2010). *Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo del camarón blanco*.
- Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C., y Guillaume, J. (2004). Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 1-4(235), 513551.
- Das, S., y Kungwani. (2022). *Understanding microbial biofilms: Fundamentals to applications*. Elsevier.
- Dawood, M., Koshio, S., y Esteban, M. Á. (2017). Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: *Aquaculture*, 10(4), 950-974. <https://doi.org/10.1111/raq.12209>
- de Souza, C., y Wan, A. H. (2021). *Vibrio and major commercially important vibriosis diseases in decap crustaceans*. *Journal of invertebrate Pathology*, 181. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107527>
- Escobar, C. E., y Silva, L. S. (2023). *Efecto de los ácidos orgánicos en la carga bacteriana de vibrios spp. en el camarón blanco (litopenaeus vannamei)*. UTMACH, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Machala, Ecuador.
- Espinoza, J. W. (2014). *Estudio microbiológico del agua en diferentes puntos de recorrido de laboratorio de larvicultura*. ESPOL. FIMCM: Acuicultura.
- Fajardo, J. A. (2013). *Cultivo de camarón blanco litopenaeus vannamei utilizando ácidos orgánicos y bacterias ácido lácticas en el alimento balanceado*. Machala: Universidad Técnica de Machala.
- Hernández Lalinde, J. D., Espinosa Castro, F., Rodríguez, J. E., y Chacón Rangel, J. (2018). Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson: definición, propiedades y sipsiciones. *Archivos venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 37(5).

- IDEEX, 2. (2023). Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI). *IDEXX*.
- Kumar, S., Rajendran, V., Kumar, S., y Alavandi, S. (2017). Zoea-2 syndrome of *Penaeus vannamei* in shrimp hatcheries. *Aquaculture*, 479, 759-767. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.022>
- Kumar, T. S., Vidya, R., Kumar, S., Alavandi, S., y Vijayan, K. (2017). Síndrome Zoea2 de *Penaeus vannamei* en criaderos de camarón. *Aquaculture*, 479, 759-767. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.022>
- Morán, V. C. (2017). *Efecto de probióticos en el crecimiento de larvas del camarón blanco (PENAEUS VANNAMEI) en cautiverio*. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil.
- Muñoz, D. A. (2022). *Validación de estrategias profilácticas en larvicultura del camarón *Penaeus vannamei* en la provincia de Santa Elena, Mar Bravo*. Facultad de Ciencias del Mar: Universidad Península de Santa Elena.
- Murcia, L. J., y Paz - Quevedo, N. E. (2020). Rendimiento productivo de tres densidades de siembra de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en la estación de Maricultura, Los Cóbano, Sonsonate, El Salvador. *Revista Agrociencia*, 3(15), 6-14. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10944601>
- Naciones Unidas para la Reducción del Riesgo de Desastres (UNDRR) y Consejo Internacional de la Ciencia (ISC). (2025). *Enfermedad del camarón (bacteriana) - Necrosis hepática pancreática aguda*. Oficina de las Naciones Unidas para la Reducción del Riesgo de Desastres (UNDRR) y Consejo Internacional de la Ciencia (ISC).

- Newase, R. (2024). *Síndrome de caparazón suelto*.
- NIETO, K. (2019). Manual De Larvicultura. *Revista De Skretting*.
- Obando, D. E. (2023). *Aplicación de cúrcuma como medida profiláctica en la mejora de la respuesta fisiológica de larvas de camarón Litopenaeus vannamei*. La Libertad. UPSE, Matriz. Facultad de Ciencias del Mar. 108p.
- Pulgarin, A. C. (2022). *Importancia de los parámetros físicos-químicos y biológicos del agua de cultivo de Litopenaeus vannamei en sistemas intensivos y superintensivos*. Universidad Técnica de Machala: Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Reyes, J. (2018). *Sensibilidad bacteriana a agentes terapéuticos utilizados para controlar problemas bacterianos en larvicultura de Penaeus (Litopenaeus)*.
- Saldarriaga, D. (1995). *Acondicionamiento y manejo de estanques de langostino*. Universidad Nacional de Tumbes., Departamento Académico de Acuicultura. Tumbes, Perú: Facultad de Ingeniería Pesquera.
- Santos. (7 de febrero de 2023). La larvicultura, el primer eslabón de la cadena camaronera. *La larvicultura, el primer eslabón de la cadena camaronera*.
- Santos, H., Tsai, C.-Y., Maquiling, K., Tayi, L. M., Chi-Wen, L., y Pin, C. K. (2019). Diagnóstico y posibles tratamientos para la necrosis hepatopancreática aguda (NHPA): una revisión. *Aquac Int.*, 28(1), 169-185. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00451-w>
- Santos, P., Muñoz, L., Cruz, C., y Navarrete, J. (2021). *Péptidos antimicrobianos LL-37 y sus derivados frente a microorganismos de importancia clínica: Una alternativa a la resistencia microbiana*.
- Siguencia, L. I. (2014). *Uso De Aceites Esenciales Y Prebióticos Como*

Aditivo Sobre El Alimento Balanceado, Evaluación De Su Efecto En La Tasa De Crecimiento Y Supervivencia En Litopenaeus Vannamei. Universidad de Guayaquil.

Torres, S. E. (2015). *Aplicación de un aditivo compuesto por emulsiicantes, ácidos orgánicos y co-factores en el balanceado del Camarón Blanco Litopenaeus vannamei para evaluar su efecto en el crecimiento y supervivencia.* Universidad de Guayaquil.

Treece, G., y Yates, M. E. (1993). *Manual De Laboratorio Para Cultivos De Larvas De Camarón Peneido.* Texas.

Zambrano, C. J. (2023). *Aislamiento y caracterización de bacterias responsables de enfermedades en el camarón Penaeus vannamei, determinando su caracterización bioquímica y su respuesta a la susceptibilidad a diferentes productos comerciales.* La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2023.

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de antiplagio.



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO

CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO

Certifico que después de revisar el documento final del trabajo de titulación denominado "Evaluación comparativa de la eficacia de dos ácidos orgánicos en la inhibición de *Vibrios* sp. en el cultivo de larvas de camarón blanco *Penaeus vannamei*" presentado por el estudiante, Elgo Edison Roberto Valverde Prado, fue enviado al Sistema Anti plagio COMPILATIO, presentando un porcentaje de similitud correspondiente al 9%, por lo que se aprueba el trabajo para que continúe con el proceso de titulación.



PhD. Juan Diego Valenzuela Cobos
C. I. 9527981670
D. TUTOR

Anexo 2. Tabla de dosificación de balanceados.

DI AS	ESTA DIO	ABM 50µ (gr/millón)	ABM 125µ (gr/millón)	EPIB AL 300µ (g)	Flake McKay (g)	Flake Hes (g)	Frpp ak #1 5-30µ (g)	Frpp ak #2 3090µ (g)	Larf eed MPL (g)	Larf eed PL 10 (g)	Larf eed PL 20 (g)	Nutrilara 100 - 200 µ (g)	Zeigler #0 (g)	Zeigler #1 (g)
1	N5	0	0	0	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0
2	Z1	5	0	0	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0
3	Z2	7	0	0	0	0	36	0	0	0	0	0	0	0
4	Z3	3.5	4	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
5	M1	2	6	0	0	0	0	92	0	0	0	0	0	0
6	M2	0	8	0	0	0	0	30	0	0	0	0	0	0
7	M3	0	0	0	0	0	0	90	110	0	0	0	0	0
8	PL1	0	0	0	30	12	0	0	200	0	0	0	0	0
9	PL2	0	0	0	80	13	0	0	86	0	0	190	0	0
10	PL3	0	0	0	70	190	0	0	0	380	0	390	0	0
11						170							29	
12	PL5	0	0	0	160	190	0	0	0	0	0	0	580	0
PL4		0	0	0	30		0	0	0	280	0	90		0
	PL7	0	0	480	150	180	0	0	0	550	0	0		0
	PL11	0	0	0	260	0	0	0	0	0	0	0		0

19	PL12	0	0	0	200	0	0	0	0	0	2250	0	2250	1810
15	PL8	0	0	480	150	170	0	0	0	97	0	0	310	0
16	PL9	0	0	380	220	0	0	0	0	0	260	0	460	190
17	PL10	0	0	0	220	0	0	0	0	0	590	0	1120	290
18											2500		2560	290
13													610	
14	PL6	0	0	190	150	190	0	0	0	610	0	0	600	0

Anexo 3. *Tabla de dosificación de probióticos y prebióticos.*

DIAS	ESTADIO	EMBIOPLUS (ppm)	TOTAL PACK (ml)
1	N5	-	-
2	Z1	-	-
3	Z2	-	-
4	Z3	0.1	-
5	M1	0.01	5
6	M2	0.05	5
7	M3	0.05	5
8	PL1	0.05	5
9	PL2	0.05	5
10	PL3	0.05	5
11	PL4	0.05	5
12	PL5	0.05	5
13	PL6	0.05	5
14	PL7	0.05	5
15	PL8	0.05	5
16	PL9	0.05	5
17	PL10	0.05	5
18	PL10	0.05	5
19	PL11	0.05	5

Anexo 4. *Tabla de dosificación de alimento vivo.*

DIAS	ESTADIO	Espirulina ultrafina (g)	Espirulina regular (g)	Microalgas (Tn)	Nauplios de Artemia (g)
1	N5	0	0	0	0
2	Z1	1	0	1	0
3	Z2	5	0	1	0
4	Z3	0	0	1	0
5	M1	0	0	1 1/2	0
6	M2	7	0	1 1/2	1000
7	M3	0	0	1 1/2	1000
8	PL1	0	190	1 1/2	1500
9	PL2	0	0	0	1500
10	PL3	0	0	0	1500
11	PL4	0	0	0	1500
12	PL5	0	0	0	1500
13	PL6	0	0	0	1500
14	PL7	0	0	0	1500
15	PL8	0	0	0	1500
16	PL9	0	0	0	1500
17	PL10	0	0	0	1500

Anexo 5.*Tabla de dosificación de vitaminas y minerales.*

DIAS	ESTADIO	Vitamina C (g)	CPP Plus VIT C (g)	Hepato 1000 Lab (g)	Pancreatin (g)	Vitapac (g)	Vitatech-S (g)
1	N5	0	0	0	0	0	0
2	Z1	129	0	0	5	19	0
3	Z2	97	0	0	10	25	0
4	Z3	102	0	0	0	14	0
5	M1	102	0	0	0	0	0
6	M2	102	0	0	0	0	0
7	M3	114	0	0	0	0	0
8	PL1	50	125	0	0	0	0
9	PL2	50	40	0	0	0	0
10	PL3	100	75	0	0	0	0

11	PL4	0	49	19	0	0	0
12	PL5	75	91	38	0	0	10
13	PL6	75	182	0	0	0	0
14	PL7	50	60	0	0	0	0
15	PL8	125	60	0	0	0	0
16	PL9	125	0	0	0	0	0
17	PL10	125	80	0	0	0	0

Anexo 6.

Tabla de dosificación de productos desinfectantes.

DIAS	ESTADIO	Bicarbonato de Sodio (g)	CAL P24 (g)	FORMOL (ml)	Pecarbonato de Sodio (g)	Yodo (ml)
1	N5	0	0	0	0	1
2	Z1	27	0	0	0	0.6
3	Z2	44	0	0	0	0.6
4	Z3	50	0	0	0	0.6
5	M1	75	0	0	0	0.6
6	M2	50	0	0	0	0.6
7	M3	50	10	0	0	0.6
8	PL1	0	10	0	0	0.6
9	PL2	50	10	0	0	0.6
10	PL3	50	0	0	0	0.6
11	PL4	50	0	117	0	0.6
12	PL5	50	250	91	0	1
13	PL6	38	250	117	0	0.6
14	PL7	50	10	0	0	0.6
15	PL8	50	0	0	0	0.6
16	PL9	50	10	0	120	1.5
17	PL10	50	250	0	221	0
18	PL11	50	250	0	125	0
19	PL12	50	250	0	125	0

Anexo 7.*ación de regul*

DIAS	ESTADIO	BACTERIA G2 (ppm)	EQUILIBRIUM SHRIMP BALANCE IONIC (ppm)	OSMOCARE (ppm)	EPICIN 3W (g)	EPICIN G2 (g)
1	N5	0.02	0	0	34	36
2	Z1	0.02	0	0	108	38
3	Z2	0.02	0	0	40	44
4	Z3	0.02	0	0	103	50
5	M1	0.02	0	0	0	50
6	M2	0.02	0	0	0	38
7	M3	0.02	0	0	0	26
8	PL1	0.05	0	0.009	0	0
9	PL2	0.05	0	0.009	0	25
10	PL3	0.05	0	0.009	0	25
11	PL4	0.05	0	0.009	0	25
12	PL5	0.05	0	0.009	0	25
13	PL6	0.05	0.01	0.009	0	35
14	PL7	0.05	0.01	0.009	0	53
15	PL8	0.05	0.01	0.009	0	25
16	PL9	0.05	0.01	0.009	0	16
17	PL10	0.05	0.05	0.009	0	16
18	PL11	0.05	0.05	0.009	0	25
19	PL12	0.05	0.05	0.009	0	38

Anexo 8.

Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para una muestra.

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		VAMARILLO	VANGINOLITY CUS	WVULNIFICUS	
N		56	56	56	
Parámetros normales ^{a,b}	Media	9909,5000	3795,8214	885,7143	
	Desv. estándar	10721,71408	2478,69125	1083,83871	
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,221	,110	,247	
	Positivo	,221	,110	,247	
	Negativo	-,186	-,082	-,223	
Estadístico de prueba		,221	,110	,247	
Sig. asin. (bilateral) ^c		<,001	,089	<,001	
Sig. Monte Carlo (bilateral) ^d	Sig.	<,001	,089	<,001	
	Intervalo de confianza al 99%	Límite inferior	,000	,082	,000
		Límite superior	,000	,096	,000

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

d. El método de Lilliefors basado en las muestras 10000 Monte Carlo con la semilla de inicio 624387341.

Anexo 9.

Prueba de Kruskal-Wallis.

Estadísticos de prueba^{a,b}

	VAMARILLO	VANGINOLITY CUS	WVULNIFICUS
H de Kruskal-Wallis	10,713	13,302	7,482
gl	13	13	13
Sig. asin.	,635	,425	,876

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: TANQUE