



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

TEMA

Efecto microbicida del aceite de canela *Cinnamomum zeylanicum* y su compuesto activo contra *Vibrio* sp. en la larvicultura de *Penaeus vannamei*.

AUTOR

DIEGO OSWALDO CUMBICOS ORTEGA

TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del grado académico en
MAGÍSTER EN ACUICULTURA

TUTOR

MSC. CRISTÓBAL DOMÍNGUEZ BORBOR

Santa Elena, Ecuador

Año 2026



**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.



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**ROXANA DEL CARMEN
ÁLVAREZ ACOSTA**

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



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**CRISTOBAL LEONARDO
DOMÍNGUEZ BORBOR**

**MSc. Cristóbal Domínguez Borbor
TUTOR**



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**JOSE JERRY LANDIVAR
ZAMBRANO**

**PhD. Jerry Landívar Zambrano
ESPECIALISTA 1**



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**JORGE OSIRIS GARCIA
REGALADO**

**PhD. Jorge García Regalado
ESPECIALISTA 2**



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**MARIA MARGARITA
RIVERA GONZALEZ**

**Ab. María Rivera González, Mgs.
SECRETARIA GENERAL
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 **Diego Oswaldo Cumbicos Ortega**, como requerimiento para la obtención del título de Magíster en Acuicultura.

Atentamente,



Validar Únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**CRISTOBAL LEONARDO
DOMINGUEZ BORBOR**

MSc. Cristóbal Domínguez Borbor
TUTOR



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

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, DIEGO OSWALDO CUMBICOS ORTEGA

DECLARO QUE:

El trabajo de Titulación, “Efecto microbicida del aceite de canela *Cinnamomum zeylanicum* y su compuesto activo contra *Vibrio* sp. en la larvicultura de *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 28 días del mes de julio de año 2026



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**DIEGO OSWALDO
CUMBICOS ORTEGA**

Diego Oswaldo Cumbicos Ortega
AUTOR



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

AUTORIZACIÓN

Yo, DIEGO OSWALDO CUMBICOS ORTEGA

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 28 días del mes de julio de año 2026



Validez únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**DIEGO OSWALDO
CUMBICOS ORTEGA**

Diego Oswaldo Cumbicos Ortega
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 **“Efecto microbicida del aceite de canela *Cinnamomum zeylanicum* y su compuesto activo contra *Vibrio* sp. en la larvicultura de *Penaeus vannamei*”**, presentado por el estudiante, Diego Oswaldo Cumbicos Ortega fue enviado al Sistema Antiplagio turnitin, presentando un porcentaje de similitud correspondiente al 8%, por lo que se aprueba el trabajo para que continúe con el proceso de titulación.

8% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas



Validar únicamente en FirmaSC.
Firmado electrónicamente por:
**CRISTOBAL LEONARDO
DOMÍNGUEZ BORBOR**

**MSc. Cristóbal Domínguez Borbor
TUTOR**

DEDICATORIA

En primer lugar, dedico este trabajo a Dios, por su infinita misericordia, por regalarme el don de la vida, concederme salud, fortaleza y sabiduría, y por guiar cada uno de mis pasos. Gracias a su amor y bendición, hoy alcanzo este importante logro académico, que asumo con el compromiso de poner mis conocimientos al servicio de la sociedad y contribuir al fortalecimiento de la soberanía alimentaria mediante el desarrollo sostenible de la acuicultura.

A mis queridos hijos Diego Alberto y Ángel David, por ser el pilar fundamental para esforzarme cada día. A mis padres Ángel, Clara y mis hermanos Ángel Eucebio, Aníbal Enrique, José Manuel, María Magdalena y Thalía, por siempre apoyarme de manera incondicional en el cumplimiento de mis metas.

Al equipo de PROAL CONSULTING, quienes me han acompañado al cumplimiento de esta meta.

Diego Oswaldo Cumbicos Ortega

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas las personas que, con su apoyo, orientación y colaboración, hicieron posible la culminación exitosa de este proyecto.

En primer lugar, agradezco al tutor de tesis MSc. Cristóbal Domínguez Borbor y al Co-tutor MSc- Daniel Rodriguez Pesantez, por sacrificar su tiempo y permitir alcanzar este logro académico.

A la Universidad UPSE, y especialmente a los docentes y administrativos del programa maestría en Acuicultura Cohorte III.

Diego Oswaldo Cumbicos Ortega

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO

TEMA	i
CERTIFICACIÓN	iii
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD	iv
AUTORIZACIÓN	v
CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO	vi
DEDICATORIA	ix
AGRADECIMIENTO.....	x
ÍNDICE GENERAL	xi
Resumen	xiii
Abstract	xiv
1. Introducción.....	13
2. Justificación	16
3. Objetivo general	18
3.1. Objetivos específicos	18
4. Hipótesis	19
5. Materiales y métodos	20
5.1. Obtención del aceite de canela	20
5.2. Perfil químico	20
5.3. Composición del aceite de canela.....	20
5.4. Emulsión del aceite esencial de canela y su principal compuesto cinamaldehído 21	
5.5. Cepas bacterianas y condiciones de crecimiento.....	21
5.6. Actividad microbici da	22
5.7. Toxicidad in vitro e in vivo	22
5.8. Post-larvas de camarón.....	23
5.9. Efecto protector del aceite de canela y su principal compuesto cinamaldehído en larvas de <i>P. vannamei</i> desafiadas con <i>V. parahaemolyticus</i> causante de AHPND.	24
5.10. Análisis estadístico	25

6. Resultados	25
6.1. Composición del aceite esencial de canela.....	25
6.2. Efecto microbicida del aceite esencial de canela y su principal compuesto cinamaldehído contra <i>vibrio</i> patógenos de camarón.....	27
6.3. Mínima concentración inhibitoria (MIC) y mínima concentración bactericida (MBC) del aceite esencial de canela y cinamaldehído para los <i>vibrio</i> patógenos de camarón.....	29
6.4. Toxicidad del aceite esencial de canela y el cinamaldehído	30
6.4.1. Citotoxicidad <i>in vitro</i> del aceite esencial de canela y el cinamaldehído	30
6.4.2. Toxicidad <i>in vivo</i> del aceite esencial de canela y el cinamaldehído.....	31
6.5. Estimación de la concentración letal (LC ₅₀) del aceite esencial de canela y cinamaldehído en estadios larvales de camarón <i>P. vannamei</i>	32
6.6. Efecto protector del aceite de canela y cinamaldehído en larvas de <i>P. vannamei</i> desafiadas con <i>V. parahaemolyticus</i> causante de AHPND en el cultivo de camarón	33
7. Discusión	35
8. Conclusión.....	41
9. Recomendaciones	42
10. Referencias.....	43
11. ANEXOS	49

Resumen

La acuicultura de *Penaeus vannamei* enfrenta importantes pérdidas por enfermedades causadas por *Vibrio spp.*, especialmente *Vibrio parahaemolyticus*, agente etiológico de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND). Este estudio evaluó la actividad antimicrobiana, toxicidad y efecto protector del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* y su principal componente, el (E)-cinamaldehído. La composición química se determinó mediante GC-MS, mientras que la actividad antimicrobiana se evaluó mediante cinética de crecimiento, concentración mínima inhibitoria (MIC) y bactericida (MBC). La citotoxicidad se analizó con el ensayo MTT en hemocitos y la toxicidad in vivo mediante LC_{50} en diferentes estadios larvarios. El aceite esencial estuvo dominado por (E)-cinamaldehído (71,5 %) y ambos tratamientos inhibieron completamente el crecimiento bacteriano a $\geq 250 \mu\text{g mL}^{-1}$. A concentraciones terapéuticas no presentaron citotoxicidad significativa y aumentaron la supervivencia de postlarvas desafiadas con *V. parahaemolyticus* (>90 %), reduciendo además las lesiones histopatológicas. El aceite esencial mostró mayor eficacia y seguridad, constituyendo una alternativa natural para prevenir AHPND y reducir el uso de antibióticos en la larvicultura.

Palabras claves: *Cinnamomum zeylanicum*; *Vibrio parahaemolyticus*; AHPND.

Abstract

Penaeus vannamei aquaculture faces significant losses due to diseases caused by *Vibrio* spp., particularly *Vibrio parahaemolyticus*, the etiological agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). This study evaluated the antimicrobial activity, toxicity, and protective effect of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil and its major constituent, (E)-cinnamaldehyde. Chemical composition was determined by GC–MS, while antimicrobial activity was assessed through growth kinetics, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) assays. Cytotoxicity was evaluated using the MTT assay in shrimp hemocytes, and in vivo toxicity was determined by LC₅₀ in different larval stages. The essential oil was dominated by (E)-cinnamaldehyde (71.5%), and both treatments completely inhibited bacterial growth at concentrations $\geq 250 \mu\text{g mL}^{-1}$. At therapeutic concentrations, neither treatment showed significant cytotoxicity and both increased the survival of postlarvae challenged with *V. parahaemolyticus* (>90%), while reducing histopathological lesions. The essential oil exhibited greater efficacy and safety, representing a promising natural alternative for AHPND prevention and reduced antibiotic use in shrimp larviculture.

Keywords: *Cinnamomum zeylanicum*; *Vibrio parahaemolyticus*; AHPN

“Efecto microbida del aceite de canela *Cinnamomum zeylanicum* y su compuesto activo contra *Vibrio* sp. en la larvicultura de *Penaeus vannamei*”

1. Introducción

La camaronicultura constituye una de las actividades acuícolas de mayor importancia económica a nivel mundial, siendo *Penaeus vannamei* una de las especies más cultivada debido a su rápido crecimiento, elevada demanda comercial y capacidad de adaptación a diferentes sistemas de producción. Sin embargo, la sostenibilidad de esta actividad enfrenta importantes desafíos sanitarios, especialmente durante la fase de larvicultura, donde las elevadas densidades de cultivo, la alta carga orgánica y las fluctuaciones de los parámetros fisicoquímicos favorecen la proliferación de bacterias oportunistas, entre ellas las pertenecientes al género *Vibrio* (Xue et al., 2020; Juárez et al., 2010). Estas bacterias son responsables de elevadas tasas de mortalidad larval, disminución en la calidad de las postlarvas y pérdidas económicas significativas para la industria acuícola (Dubert et al., 2017; Vandeputte et al., 2024; Shafiee et al., 2024).

En Ecuador, la camaronicultura representa uno de los principales sectores productivos y constituye la mayor fuente de exportaciones no petroleras del país (Marcillo, 2017; Quinto et al., 2025). El éxito de esta industria depende en gran medida del suministro continuo de postlarvas de alta calidad sanitaria. Sin embargo, los brotes ocasionados por bacterias del género *Vibrio* continúan representando uno de los principales problemas sanitarios durante la producción larval, incrementando los costos operativos por tratamientos, reduciendo la supervivencia y afectando la calidad biológica de las postlarvas destinadas al engorde. Aunque algunos laboratorios emplean estrategias preventivas como probióticos, desinfectantes y mejoras en bioseguridad, aún existe la necesidad de desarrollar alternativas antimicrobianas naturales que sean eficaces, económicamente viables y compatibles con una acuicultura sostenible.

En las últimas décadas, diversas especies de *Vibrio*, como *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, y *Vibrio alginolyticus*, han sido identificadas como agentes

etiológicas enfermedades que afectan a los camarones marinos en diferentes etapas de desarrollo (Jayasree et al., 2006). Particularmente, el síndrome de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), asociado principalmente a cepas patógenas de *V. parahaemolyticus*, ha ocasionado pérdidas económicas estimadas en miles de millones de dólares a nivel mundial, afectando considerablemente la productividad de la industria (Lai et al., 2015; Li et al., 2017; Soto-Rodriguez et al., 2018). Como consecuencia, el control de estas bacterias continúa siendo una prioridad para los laboratorios de producción larval.

Tradicionalmente, el manejo sanitario de las infecciones bacterianas ha dependido del uso de antibióticos y compuestos químicos. No obstante, su utilización frecuente e indiscriminada ha favorecido la aparición de cepas bacterianas multirresistentes, además de generar residuos en los organismos cultivados y posibles impactos negativos sobre el ambiente acuático y la salud pública. En respuesta a esta problemática, organismos internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (WOAH) promueven la reducción del uso de antimicrobianos y el desarrollo de alternativas naturales, seguras y ambientalmente sostenibles para el control de enfermedades en la acuicultura (Pinto-Ferreira et al., 2022; Alhassan et al., 2025).

Entre las alternativas más prometedoras se encuentran los aceites esenciales obtenidos de plantas medicinales, los cuales poseen reconocidas propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias e inmunoestimulantes. El aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), cuyo principal compuesto bioactivo es el cinamaldehído, ha demostrado una elevada actividad inhibitoria frente a diversas bacterias Gram negativas y Gram positivas mediante mecanismos que incluyen la alteración de la permeabilidad de la membrana celular, la inhibición de sistemas enzimáticos y la interferencia en la formación de biopelículas bacterianas (Vasconcelos et al., 2018; Bouguerra et al., 2026; Ferrando et al., 2024). Estas propiedades convierten al aceite de canela en un candidato potencial para reemplazar parcial o totalmente el uso de antibióticos convencionales en sistemas acuícolas.

A pesar del creciente interés científico por los aceites esenciales, aún la información es limitada acerca de su aplicación práctica durante la larvicultura de crustáceos marinos. Los estudios disponibles presentan una considerable variabilidad en cuanto a concentraciones efectivas, métodos de aplicación, estabilidad de los compuestos activos en agua de mar y posibles efectos sobre la supervivencia y el desarrollo de las larvas (Sharififar et al., 2009; Ramadhani et al., 2022). Investigaciones que evalúan simultáneamente el aceite esencial y su compuesto activo principal frente a cepas de *Vibrio* aisladas de laboratorios de producción larval son nulos, lo que limita la posibilidad de establecer protocolos técnicamente validados para su incorporación en programas de bioseguridad acuícola.

En este contexto, se identifica un vacío de conocimiento relacionado con la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* y de su compuesto activo frente a *Vibrio* spp. asociados a la larvicultura de *Penaeus vannamei*, así como respecto a su potencial aplicación como herramienta sanitaria en condiciones propias de los laboratorios de producción larval. La generación de evidencia científica sobre este tema permitirá establecer bases para el desarrollo de estrategias alternativas de control bacteriano que reduzcan la dependencia de antibióticos, contribuyan a mejorar la supervivencia larval y fortalezcan la sostenibilidad sanitaria de la industria camaronera nacional.

2. Justificación

La camaronicultura constituye uno de los pilares de la producción acuícola mundial y representa una actividad estratégica para la economía ecuatoriana, siendo el camarón blanco *Penaeus vannamei* el principal producto de exportación no petrolero del país (<https://www.cna-ecuador.com/estadisticas/>). El éxito de esta industria depende, en gran medida, de la producción continua de postlarvas de alta calidad sanitaria en los laboratorios de larvicultura. Sin embargo, la presencia de bacterias del género *Vibrio* continúa siendo una de las principales causas de mortalidad durante las primeras etapas del ciclo productivo, ocasionando pérdidas económicas debido a la disminución de la supervivencia larval, el incremento de los costos de producción y la reducción de la calidad de las postlarvas.

Desde el punto de vista científico, esta investigación contribuirá a ampliar el conocimiento sobre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela *Cinnamomum zeylanicum* y de su principal compuesto activo frente a cepas de *Vibrio* spp. asociadas a la larvicultura de *Penaeus vannamei*. Aunque diversos estudios han demostrado el potencial antimicrobiano de los aceites esenciales en microorganismos de interés médico y alimentario, aún existe información limitada respecto a su aplicación en sistemas de producción larval de camarones marinos, especialmente bajo condiciones experimentales representativas de los laboratorios de producción ecuatorianos. En consecuencia, los resultados permitirán generar evidencia científica que contribuya al desarrollo de alternativas naturales para el control de patógenos bacterianos en la acuicultura.

Desde la perspectiva tecnológica y productiva, el estudio responde a la necesidad de desarrollar estrategias de control bacteriano que reduzcan la dependencia del uso de antibióticos y otros compuestos químicos, cuyo empleo ha favorecido la aparición de cepas resistentes, incrementado los costos sanitarios y generado preocupación por sus posibles efectos ambientales. La evaluación del aceite esencial de canela como agente antimicrobiano permitirá determinar su potencial como herramienta de bioseguridad dentro de los programas de manejo sanitario implementados en los laboratorios de larvicultura.

En el ámbito económico, la identificación de una alternativa natural eficaz para el control de *Vibrio* spp. podría contribuir a mejorar las tasas de supervivencia larval, incrementar la producción de postlarvas de calidad y disminuir las pérdidas ocasionadas por brotes bacterianos. Esto favorecería una mayor eficiencia productiva de los laboratorios de larvicultura y fortalecería la competitividad de la industria camaronera ecuatoriana en los mercados internacionales, donde existe una creciente demanda por productos obtenidos mediante sistemas de producción sostenibles.

Desde el punto de vista social y ambiental, la investigación se encuentra alineada con los principios de una acuicultura sostenible y con las recomendaciones internacionales orientadas a reducir el uso de antibióticos en la producción animal. La incorporación de compuestos naturales de origen vegetal como alternativas para el control de enfermedades bacterianas contribuirá a disminuir la presión de selección de microorganismos resistentes, reducir el riesgo de contaminación de los ecosistemas acuáticos y promover prácticas productivas ambientalmente responsables. De esta manera, los beneficios del estudio trascienden el ámbito científico y productivo, generando impactos positivos sobre la sostenibilidad de la acuicultura, la seguridad alimentaria y la salud pública.

Esta investigación proporcionará información técnica sobre la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* y de su compuesto activo frente a *Vibrio* spp., la cual podrá servir como base para el diseño de protocolos de aplicación en laboratorios de larvicultura de *Penaeus vannamei*. Asimismo, los resultados podrán orientar futuras investigaciones relacionadas con el desarrollo de fitobióticos y productos naturales para el manejo sanitario de organismos acuáticos, promoviendo la innovación tecnológica y fortaleciendo la producción camaronera bajo un enfoque de sostenibilidad, bioseguridad y reducción del uso de antimicrobianos.

3. Objetivo general

Evaluar el efecto microbicida del aceite de *Cinnamomum zeylanicum* y su compuesto activo contra *Vibrio* spp. en la larvicultura de *Penaeus vannamei* para determinar su potencial como herramienta de manejo sanitario.

3.1. Objetivos específicos

- a) Determinar el efecto de diferentes concentraciones de aceite de canela y su compuesto activo sobre la carga de *Vibrios* spp.
- b) Analizar la relación dosis–respuesta entre la concentración aceite y la reducción de vibrios, así como su impacto en parámetros microbiológicos de calidad del agua
- c) Determinar el perfil químico del aceite de canela, mediante la identificación y cuantificación de sus principales componentes.

4. Hipótesis

H0: El aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su compuesto activo no presentan efecto antimicrobiano contra *Vibrio* spp. asociado a la larvicultura de *Penaeus vannamei*, reduciendo el crecimiento bacteriano en función de la concentración aplicada.

Ha: El aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su compuesto activo presentan efecto microbici da contra *Vibrio* spp. asociado a la larvicultura de *Penaeus vannamei*, reduciendo el crecimiento bacteriano en función de la concentración aplicada.

Idea a defender

El aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su compuesto activo constituyen una alternativa natural con potencial microbici da para el control de *Vibrio* spp. asociados a la larvicultura de *Penaeus vannamei*, contribuyendo al fortalecimiento de la bioseguridad y a la reducción del uso de antibióticos en la producción larval.

5. Materiales y métodos

5.1. Obtención del aceite de canela

El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* fue obtenido mediante hidrodestilación utilizando un equipo tipo Clevenger. Brevemente, la corteza seca de *C. zeylanicum* fue previamente triturada y sometida a destilación con agua destilada en una relación sólido:líquido de 1:10 (p/v). El proceso se llevó a cabo durante 3–4 horas a ebullición constante, permitiendo la volatilización y posterior condensación de los compuestos aromáticos. El aceite esencial recolectado fue separado de la fase acuosa, secado con sulfato de sodio anhidro para eliminar trazas de humedad y almacenado en frascos ámbar a 4 °C hasta su posterior uso. El rendimiento del aceite fue calculado en base al peso seco del material vegetal inicial. El compuesto cinamaldehído de 97 % de pureza fue obtenido de Sigma Aldrich (Código: WXBFB0274V)

5.2. Perfil químico

El perfil químico del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* se determinó mediante análisis externo en un laboratorio especializado. Para ello, las muestras de aceite adquiridas a un laboratorio comercial mantenidas a 4 °C fueron enviadas bajo condiciones controladas de temperatura y protegidas de la luz al laboratorio analítico, donde se realizó la identificación y cuantificación de los compuestos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). El análisis cromatográfico se llevó a cabo empleando una columna capilar adecuada para compuestos volátiles, utilizando helio como gas portador. La identificación de los compuestos se realizó comparando los espectros de masas obtenidos con bases de datos comerciales (NIST u otras), así como mediante la comparación de índices de retención reportados en la literatura.

5.3. Composición del aceite de canela

El análisis químico del aceite esencial de canela se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) utilizando un sistema TRACE 1310 conectado a un espectrómetro ISQ 7000 (Thermo Scientific, EE. UU.). Los análisis cualitativos y cuantitativos se llevaron a cabo utilizando helio de pureza GC como gas portador en dos columnas capilares: una TR-5MS no polar (5 % de fenilmetilpolisiloxano) y una TR-WAX polar (polietilenglicol), ambas de 30 m × 0,25 mm de diámetro y 0,25 µm de espesor de película.

El espectrómetro operó en modo de ionización por impacto electrónico (70 eV), con un rango de masas de 40 a 400 m/z y temperaturas de la fuente y la línea de transferencia de 230 °C.

La identificación de compuestos volátiles se realizó comparando los índices de retención y los espectros de masas con los valores reportados en las bases de datos especializadas PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) (Kim et al., 2025) y los índices de retención experimentales se calcularon de acuerdo con (Morocho et al., 2024), utilizando una serie homóloga de n-alcanos (C9–C20) bajo condiciones experimentales similares.

5.4. Emulsión del aceite esencial de canela y su principal compuesto cinamaldehído

El aceite esencial de canela y el cinamaldehído se emulsionaron por separados usando en SS-NaCl y Tween-80 siguiendo la metodología descrita por Deng et al. (2016) con ligeras modificaciones. Brevemente, la solución emulsionante se preparó con Tween-80 (1% v/v) en SS-2% NaCl, se agitó a 150 rpm durante 15 minutos con un mezclador de vórtice, y luego se añadió aceite de canela (10% v/v) y se agitó nuevamente durante 15 minutos para obtener una suspensión homogénea. A partir de esta suspensión, se realizaron diferentes diluciones para obtener las concentraciones deseadas.

5.5. Cepas bacterianas y condiciones de crecimiento

En este estudio se utilizaron tres cepas de vibrios: *V. harveyi*, *V. campbellii*, y *V. parahaemolyticus*. Las cepas de *Vibrio* fueron proporcionadas por el departamento de bioactividad del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM, Ecuador). Las tres cepas se cultivaron aeróbicamente en agar Luria-Bertani con NaCl al 2% (LBa + NaCl al 2%), mediante siembra de estrías, y se incubaron durante 18 h a 28 °C. Posteriormente, las colonias individuales se transfirieron a caldo Luria-Bertani suplementado con NaCl al 2% (peso/volumen) (LBb + NaCl al 2%) y se incubaron a 28 °C con agitación (200 rpm) durante 8 h de crecimiento. Los cultivos de vibrios se diluyeron en LBb + 2% NaCl para obtener suspensiones bacterianas de 2×10^{-8} UFC/mL con una densidad óptica (DO) de 0,4–0,6 a 600 nm (Domínguez Borbor and Rodríguez León, 2020). A partir de esto, se realizaron diluciones seriadas en solución salina estéril (SS-2% NaCl) para análisis posteriores.

5.6. Actividad microbicida

Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) (para las tres cepas de *Vibrios*) utilizando la técnica de microdilución descrita por Soković et al. (2010), con ligeras adaptaciones. Brevemente, en microplacas de 96 pocillos, se añadieron a cada pocillo 160 µL de caldo TSB estéril + NaCl al 2%, 20 µL de aceite de canela a diferentes concentraciones finales (0–2000 µg/mL) y 20 µL de inóculo de *V. parahaemolyticus* (10^6 UFC/mL). Las microplacas (por triplicado) se incubaron a 28 °C durante 24 h y los valores de CMI se determinaron como la dosis más baja en la que no se observó turbidez, evaluada a 600 nm (VarioskanLux_0315).

Para la determinación de la CMB, se sembraron 100 µL de los pocillos correspondientes a la CMI y de las tres concentraciones superiores en placas Petri con TSA + 2% NaCl, incubándose a 28 °C durante 24 h. Las placas sin crecimiento bacteriano se consideraron como CMB y se expresaron en µg/mL de aceite de canela.

5.7. Toxicidad in vitro e in vivo

Inicialmente, la toxicidad de los aceites esenciales se determinó in vitro mediante el ensayo de reducción de MTT, siguiendo la metodología descrita por Domínguez-Borbor et al. (2018). Se extrajo hemolinfa de camarones sanos y se estableció un cultivo primario de hemocitos a una concentración de 10^6 células/mL en placas de 96 pocillos con sales de Hanks (Gibco 14185-052) suplementadas con 13 mM de CaCl_2 y 26 mM de MgCl_2 . Los cultivos se incubaron durante 75 min a 26 °C.

Posteriormente, el sobrenadante fue descartado y se añadieron 100 µL de sales de Hanks suplementadas con 12 mM de CaCl_2 y 6 mM de MgCl_2 . El aceite de canela se diluyó en este medio a concentraciones de 0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 y 10,0 µg/mL. Se realizaron seis réplicas por tratamiento, incluyendo un control sin aceite esencial. Tras 120 min de exposición, se añadieron 10 µL de MTT (5 mg/mL) y se incubaron durante 120 min a 26 °C. Finalmente, el sobrenadante fue eliminado y los cristales de formazán se disolvieron con 150 µL de isopropanol HCl 0,04 N.

La toxicidad *in vivo*, se utilizaron estadios larvales (Zoea, Misys) y post-larvas (PL3 y PL8) de *P. vannamei* obtenidas un laboratorio comercial. La evaluación se realizó por triplicado en vasos precipitados de 500 mL a una densidad de 0.1 larva por mL (50 post-larvas). El agua empleada fue filtrada y esterilizada en autoclave. Durante el ensayo (96 h), se registró la mortalidad acumulada, signos clínicos, comportamiento y consumo de alimento. Asimismo, se realizaron muestreos periódicos para determinar la carga bacteriana en agua y tejido mediante siembra en medios selectivos. Al finalizar el experimento, se calculó la supervivencia acumulada y se compararon los tratamientos para evaluar el efecto protector del aceite.

5.8. Post-larvas de camarón

Las post-larvas (PL2) de *Penaeus vannamei* fueron obtenidas de un laboratorio comercial y transportadas en bolsas con oxigenación hasta las instalaciones experimentales (Monteverde, Santa Elena, Ecuador). Se distribuyeron 110 larvas por L en recipientes de 10 L por triplicado previo al desafío (5 tratamientos con dosis distintas de aceite de canela y 5 tratamientos con dosis distintas de compuesto activo más 2 controles negativos). Las post-larvas se cultivaron en tanques cónicos con agua de mar filtrada (1 μ m) y esterilizada con luz UV, salinidad de 30–32 g/L, temperatura de 28 ± 1 °C, pH 7.8–8.2 y oxígeno disuelto >5 mg/L, incluyendo alimentación con balanceado comercial, artemia (con la inclusión de las dosis de aceite) y recambios de agua de acuerdo con necesidad por un lapso de 8 días.

Se utilizó dieta comercial (47 % proteína cruda) con una dosis equivalente al 50 % de la biomasa por día, fraccionada en seis raciones diarias durante el período experimental. La cantidad de alimento se ajustó periódicamente de acuerdo con la biomasa estimada y el consumo observado, evitando la sobrealimentación y la acumulación de materia orgánica en el sistema de cultivo (Lim y Akiyama, 1995; Zhang et al., 2013).

Las post-larvas de *P. vannamei* fueron alimentadas durante siete días con dietas suplementadas con aceite esencial de *C. zeylanicum* y cinamaldehído a concentraciones de 31,2; 62,5; 125 y 250 μ g/mL, previo al desafío por inmersión con *Vibrio parahaemolyticus*. Posteriormente, las larvas fueron mantenidas bajo condiciones controladas durante 96 h, registrándose la mortalidad a intervalos regulares para determinar la supervivencia acumulada y evaluar el efecto protector de ambos compuestos frente a la infección bacteriana.

Se registraron diariamente la temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto mediante un multiparámetro digital. El amonio (NH_4^+), nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) fueron medidos cada 48 h utilizando kits colorimétricos comerciales. Con frecuencia interdiaria, se realizó conteo poblacional de post-larvas vivas en cada tratamiento. La supervivencia (%) fue calculada mediante la fórmula:

$$\text{Supervivencia}(\%) = \frac{N_f}{N_i} \times 100$$

donde N_f es el número final de organismos vivos y N_i el número inicial sembrado.

5.9. Efecto protector del aceite de canela y su principal compuesto cinamaldehído en larvas de *P. vannamei* desafiadas con *V. parahaemolyticus* causante de AHPND.

Para la prueba de desafío se realizó *V. parahaemolyticus* (cepa BA94C2) causante de AHPND en camarones, siguiendo el protocolo de Domínguez-Borbor et al. (2019) con modificaciones. *V. parahaemolyticus* se sembró en agar TSA + 2% NaCl y se incubó durante la noche. Las colonias fueron analizadas mediante PCR para confirmar la presencia de los genes *pirA* y *pirB*.

Tras la confirmación, ocho colonias se transfirieron a 1000 mL de TSA + 2% NaCl y se incubaron durante 5 h a $30 \pm 0,5$ °C con agitación. Cuando el inóculo alcanzó 2×10^{-1} UFC mL^{-1} (DO620 = 0,33), se centrifugó a 3000 g durante 10 min a 25 °C. Los sobrenadantes fueron descartados y los pellets bacterianos se re suspendieron en solución salina (NaCl al 2%).

La infección se realizó por inmersión, inoculando la suspensión bacteriana hasta alcanzar una concentración final de 2×10^5 UFC/mL en las unidades experimentales (0,05 post-larvas por mL en vasos de 500 mL). Se utilizaron tres unidades experimentales como control negativo. No se realizaron cambios de agua durante las primeras 24 h, y después se reemplazó diariamente el 50% del agua. La supervivencia acumulada se determinó a las 120 h post-

exposición mediante conteo periódico de las post-larvas muertas.

5.10. Análisis estadístico

Los datos fueron evaluados para normalidad (Shapiro–Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene). Posteriormente, se aplicará un ANOVA de una vía para detectar diferencias significativas entre tratamientos. Se utilizó la prueba de Tukey para comparación múltiple de medias ($p < 0.05$).

La supervivencia de las post-larvas se analizó mediante el método de Kaplan–Meier para estimar la probabilidad acumulada de supervivencia a lo largo del tiempo. Las diferencias entre las curvas de supervivencia de los tratamientos se evaluaron utilizando la prueba de log-rank (Mantel–Cox). Los individuos supervivientes al finalizar el experimento fueron considerados datos censurados. Los resultados se expresaron como curvas de supervivencia y se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó utilizando software especializado (RStudio).

6. Resultados

6.1. Composición del aceite esencial de canela

La composición del aceite esencial de canela se muestra en la Tabla 1. En total, se identificaron 18 compuestos, siendo cinco los más abundantes: (E)-cinnamaldehyde con $71,5 \pm 1,15$ %, 1357 $6,94 \pm 0,55$ %, timol $5,95 \pm 1,2$ %, cariofileno $2,98 \pm 0,65$ % y γ -terpineno $2,45 \pm 0,06$ %. Los componentes principales del esencial de canela fueron Aldehído aromático (71 .5%), Hidrocarburos monoterpénicos (11,65 %) y Monoterpenos oxigenados (9,42 %). Los hidrocarburos sesquiterpénicos y los sesquiterpenos oxigenados estuvieron presentes en proporciones menores (4,25 y 0,95 %), respectivamente.

Tabla 1. Composición química del aceite esencial de canela

CN	Compounds	RI _{CAL}	RI _{LIT}	%	SD	CG
1	α -Thujene	924	924	0.4	0.03	HM

2	α -Pinene	932	932	0.98	0.09	HM
3	Benzaldehyde	963	963	0.3	0.02	HM
4	α -Terpinene	1015	1015	2.4	0.11	HM
5	<i>p</i> -Cymene	1025	1025	1.92	0.22	HM
6	Limonene	1024	1024	5.3	0.43	HM
7	γ -Terpinene	1055	1054	0.35	0.02	HM
8	Linalool	1097	1095	4.52	0.37	MO
9	α -Terpineol	1192	1192	3.8	0.42	MO
10	Nerol	1227	1227	0.2	0.01	MO
11	Geraniol	1254	1254	0.9	0.08	MO
12	(E)-cinnamaldehyde	1414	1414	71.5	1.15	AA
13	β -Caryophyllene	1420	1420	0.4	0.02	HS
14	Eugenol	1469	1469	3.1	0.02	HS
15	Acetic acid, cinnamyl ester	1536	1536	0.5	0.017	OC
16	trans-Calamenene	1585	1585	0.75	0.06	HS
17	Caryophyllene oxide	1621	1621	0.95	0.04	SO
18	Benzyl benzoate	1710	1710	0.52	0.07	OC
	Hidrocarburos monoterpénicos (HM)		11.65			

	Monoterpenos oxigenados (MO)		9.42		
	Hidrocarburos sesquiterpénicos (HS)		4.25		
	Sesquiterpenos oxigenados (SO)		0.95		
	Aldehído aromático (AA)		71.5		
	Otros compuestos (OC)			1.2	
	Total identificado			98.84	

CN: número de compuesto, asignado según su orden de elución; RI_{CAL}: índice de retención calculado; RI_{LIT}: índice de retención de literatura; %: abundancia relativa; DE: desviación estándar; CG: grupo compuesto.

6.2. Efecto microbida del aceite esencial de canela y su principal compuesto cinamaldehído contra *vibrio* patógenos de camarón

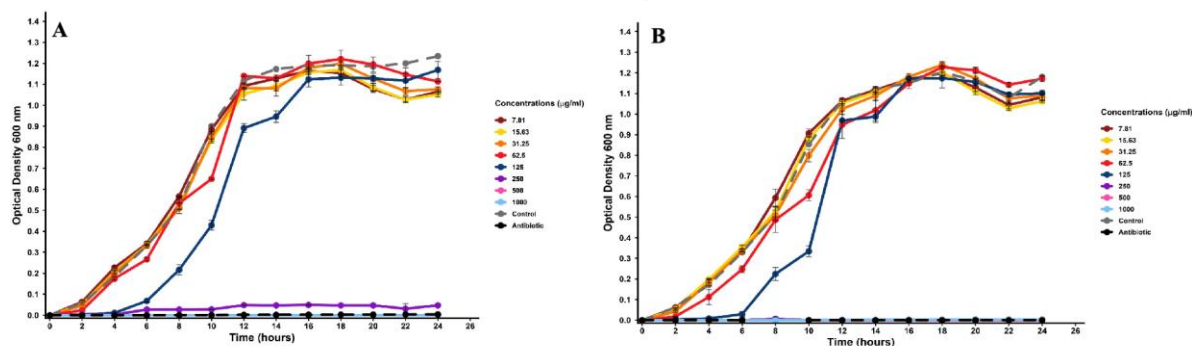
La emulsión del aceite esencial de canela y del cinamaldehído mostraron claros efectos microbicidas contra las tres especies de *Vibrio* patógenas de camarón evaluadas en el presente estudio. La figura 1 muestra la cinética del crecimiento de las tres cepas de *Vibrio* durante 24 horas, en presencia del aceite esencial y el cinamaldehído a diferentes concentraciones (7,81–1000 µg/mL). El grupo control (sin tratamiento) ilustra la curva de crecimiento característica de cada una de cepa de *Vibrio*, a modo general la fase de latencia estuvo en las primeras 2–4 horas, seguida por una fase exponencial entre las 4 y 10 horas, alcanzando una DO₆₀₀ máxima cercana a 1,15 alrededor de las 12–14 horas, para posteriormente entrar en una fase estacionaria con ligeras fluctuaciones hasta las 24 horas (Fig. 1).

En contraste las concentraciones más bajas evaluadas tanto del aceite esencial y el cinamaldehído (7,81; 15,63; 31,25 y 62,5 µg/mL), mostraron un patrón de crecimiento similar al grupo control. A pesar, que observa un retraso en la fase exponencial y una leve reducción en los valores de la densidad óptica, en la fase estacionaria los valores de absorbancia son iguales o incluso levemente superiores que el grupo control, lo que indica

una limitada capacidad inhibitoria del aceite esencial y el cinamaldehído a estas concentraciones para las tres cepas de *Vibrio* (Fig. 1).

La concentración de 125 $\mu\text{g/mL}$ produjo un marcado efecto sobre la cinética de crecimiento de los tres *Vibrio* spp., se observó una prolongación de la fase de latencia hasta aproximadamente las 10 horas, seguida de un incremento gradual de la densidad óptica alcanzando valores por debajo del del control, esto sugiere una inhibición parcial del crecimiento y un efecto predominantemente bacteriostático para las tres cepas de *Vibrio*.

No obstante, las concentraciones superiores (250, 500 y 1000 $\mu\text{g/mL}$) evaluadas, mostraron valores de densidad óptica cercana a cero durante las 24 horas de experimento, valores comparables al control positivo tratado con antibiótico, lo que sugiere una inhibición completa del crecimiento bacteriano a partir de 250 $\mu\text{g/mL}$ para las tres especies de *Vibrio* patagena de camarón evaluadas (Fig. 1). En conjunto, los resultados evidencian una respuesta dependiente de la concentración del aceite esencial de canela y el cinamaldehído. Evidenciando que a concentraciones superiores a 250 $\mu\text{g/mL}$ inhiben completamente la proliferación celular, lo que indica una potente actividad microbicida del aceite esencial y del cinamaldehído contra las tres especies de *Vibrio* patógeno de camarón.



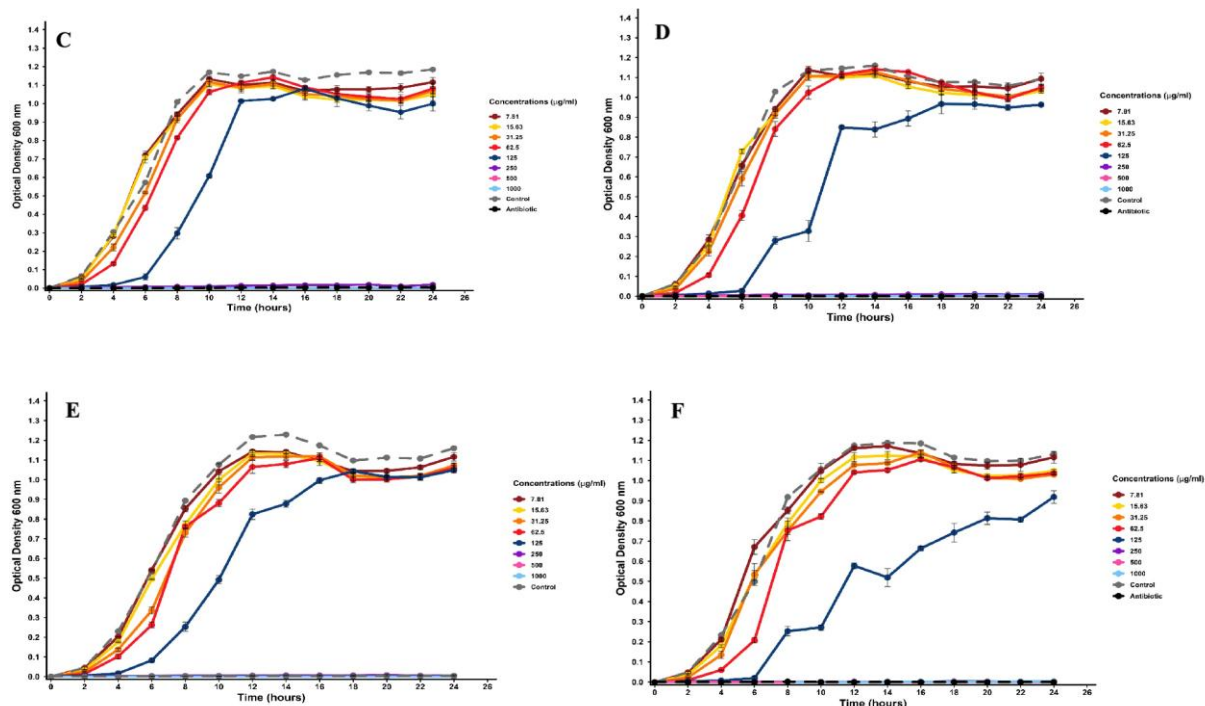


Figura 1. Cinética de crecimiento de las tres especies de *Vibrio* patógenas de camarón expuesta a el aceite esencial de canela y a su principal compuesto cinamaldehído durante 24 horas. Figura 1A) Cinética de crecimiento de *Vibrio parahaemolyticus* (cepa BA94C2) expuesta a aceite esencial de canela. 1B) Cinética de crecimiento de *Vibrio parahaemolyticus* (cepa BA94C2) expuesta a cinamaldehído. 1C) Cinética de crecimiento de *Vibrio campbellii* (cepa LM2013) expuesta a aceite esencial de canela. 1D) Cinética de crecimiento de *Vibrio campbellii* (cepa LM2013) expuesta a cinamaldehído. 1E) Cinética de crecimiento de *Vibrio harveyi* (cepa E22) expuesta al aceite esencial de canela. 1F) Cinética de crecimiento de *Vibrio harveyi* (cepa E22) expuesta a cinamaldehído.

6.3. Mínima concentración inhibitoria (MIC) y mínima concentración bactericida (MBC) del aceite esencial de canela y cinamaldehído para los *vibrio* patógenos de camarón.

El aceite de canela y el cinamaldehído exhibieron diferentes valores de MIC y MBC frente a las tres cepas de *Vibrio* evaluadas (Tabla 2). Sin embargo, los valores más bajos de la MIC y MBC se obtuvieron para *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio harveyi* con ambos productos, lo que demuestra su claro efecto microbicida. Los valores más alto de MIC y MBC

fueron registrados para *Vibrio campbelli*, sugiriendo una leve resistencia de la bacteria para estos productos evaluados.

Tabla 2. Estimación de dosis inhibitorias y microbicida del esencial de canela y el cinamaldehído para tres especies de *Vibrio* patógenos de camarón.

Especie <i>Vibrio</i>	Cepa	Aceite esencial de canela (µg/mL)		Cinamaldehído (µg/mL)	
		MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	BA94C2	200	200	180	200
<i>Vibrio campbellii</i>	LM2013	250	300	250	250
<i>Vibrio harveyi</i>	E22	250	250	250	250

6.4. Toxicidad del aceite esencial de canela y el cinamaldehído

6.4.1. Citotoxicidad *in vitro* del aceite esencial de canela y el cinamaldehído

Las pruebas de toxicidad *in vitro* del aceite esencial de canela y el cinamaldehído evidenció que ambos productos no afectaron la viabilidad de los hemocitos en concentraciones inferiores a 125 µg/mL (Fig. 2). La viabilidad de los hemocitos expuestos al aceite esencial de canela solo se vio afectada significativamente ($p < 0.05$) a una concentración de 500 µg/mL. Sin embargo, la viabilidad de los hemocitos expuestos al cinamaldehído se afectaron significativamente ($p < 0.05$) a las dos concentraciones más altas evaluada (250 y 500 µg/mL) (Fig. 2).

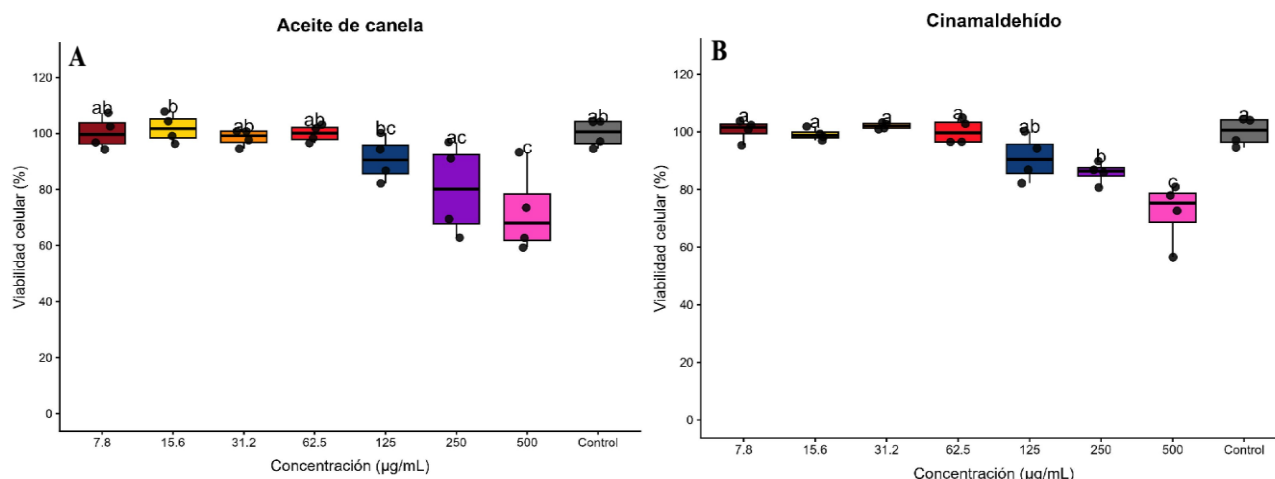


Figura 2. Prueba de toxicidad realizada con aceite esencial de canela (2A) y cinamaldehído (2B) en hemocitos de camarón (después de 4 h). La viabilidad de los hemocitos en el tratamiento control se estableció en 100% y los demás tratamientos se normalizaron en consecuencia. Las letras en superíndice (a, b, c, etc.) indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

6.4.2. Toxicidad *in vivo* del aceite esencial de canela y el cinamaldehído

Las pruebas de toxicidad *in vivo* con aceite esencial de canela y cinamaldehído revelaron que cuanto más temprana es la etapa larvaria de los camarones, mayor es su susceptibilidad para ambos productos. En la etapa zoea, el aceite esencial de canela y el cinamaldehído afectaron significativamente ($p < 0,05$) la supervivencia en todas las concentraciones evaluadas, (Fig. 3). Con respecto a la etapa mysis, el aceite esencial de canela y cinamaldehído, solo a las dos concentraciones más bajas evaluadas no mostraron efecto negativo sobre la supervivencia (31.2 y 62.5 µg/mL). En cuanto a las PL3 y PL8, tanto el aceite esencial de canela como cinamaldehído no mostraron efecto sobre la supervivencia de las PL en ninguna de las concentraciones evaluadas (Fig. 3).

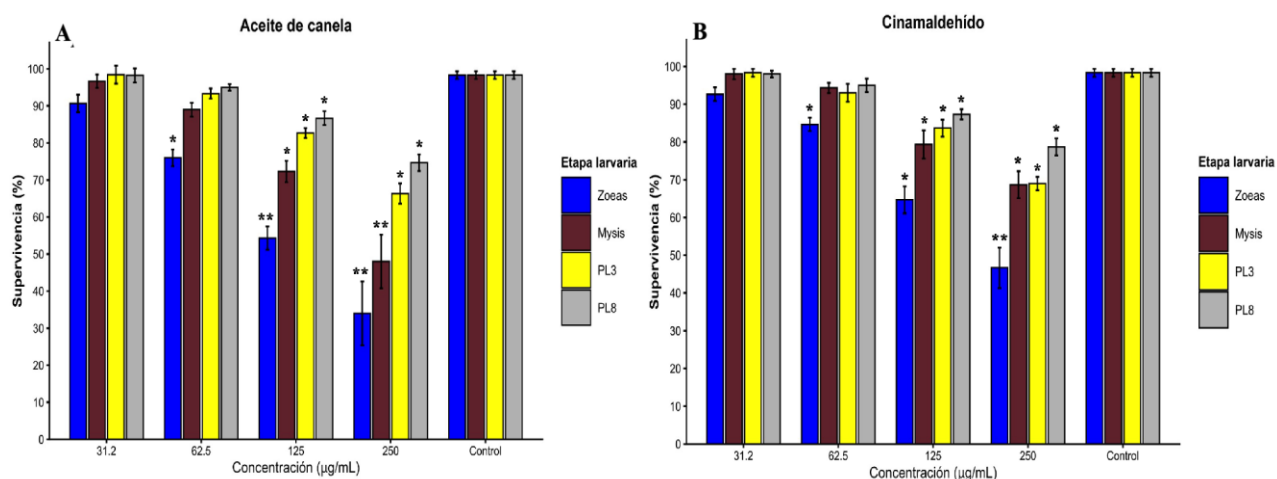


Figura 3. Resultados de supervivencia de larvas y post-larvas de *P. vannamei* expuestas a diferentes concentraciones de aceites esencial de canela y cinamaldehído en tres etapas de desarrollo. (3A) Efecto del aceite esencial de canela y (3B) Efecto del cinamaldehído. Los datos se presentan como valores promedio $\pm$ desviación estándar de seis réplicas. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en comparación con el tratamiento control.

6.5. Estimación de la concentración letal (LC_{50}) del aceite esencial de canela y cinamaldehído en estadios larvales de camarón *P. vannamei*

Los valores estimados de LC_{50} para el aceite esencial de canela y cinamaldehído, para cada estadio larvario de *P. vannamei* se muestran en la (Tabla 3). El análisis de regresión probit permitió estimar (LC_{50}), estableciendo que para el estadio Zoea el valor estimado es de 139,75 $\mu\text{g/mL}$ ($IC_{95\%} = 125, 6 - 154,9$) de aceite de canela y para cinamaldehído 208, 2 $\mu\text{g/mL}$ ($IC_{95\%} = 179,6 - 241,3$). Mientras, que para las PL3 el valor estimado es de 433,6 $\mu\text{g/mL}$ ($IC_{95\%} = 336,9 - 558,0$) de aceite de canela y para cinamaldehído 475, 2 $\mu\text{g/mL}$ ($IC_{95\%} = 360,5 - 626,0$) lo que sugiere una mayor sensibilidad para la línea celular para estadios tempranos de larvas de *P. vannamei*.

Tabla 3. Estimación de la concentración letal (LC_{50}) mediante análisis probit para el aceite esencial de canela y el cinamaldehído en cuatro estadios larvarios de *P. vannamei*. Los valores

se muestran en ($\mu\text{g/mL}$) y los intervalos de confianza del 95% (IC95%) se muestran para cada estadio larvario de *P. vannamei*.

LC ₅₀ por estadio larvario <i>P. vannamei</i>				
	Aceite esencial de canela		Cinamaldehído	
	Valor	IC 95%	Valor	IC 95%
Zoea	139.5	125.6 – 154.9	208.2	179.6 – 241.3
Mysis	230.0	200.5 – 263.8	448.6	339.1 – 593.5
PL3	433.6	336.9 – 558.0	475.0	360.5 – 626.0
PL8	681.7	459.8 – 1010.7	893.5	541.8 – 1473.5

6.6. Efecto protector del aceite de canela y cinamaldehído en larvas de *P. vannamei* desafiadas con *V. parahaemolyticus* causante de AHPND en el cultivo de camarón

El aceite esencial de canela y el cinamaldehído suministrado por 7 días en el alimento mejoró significativamente ($p < 0,05$) la supervivencia de las larvas de *P. vannamei* cuando fueron desafiadas con *V. parahaemolyticus* causante de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) (Tabla 4). El *V. parahaemolyticus* provocó una mortalidad acumulada ($80,0 \pm 5,6$) en el grupo control, durante los 4 días del post-desafío, en consecuencia, las larvas donde se suministró $250 \mu\text{g/mL}$ de aceite de canela o cinamaldehído no se registró mortalidad tras el desafío (Tabla 4). Sin embargo, a las concentraciones inferiores evaluadas si se observó mortalidad (62.5 y $125 \mu\text{g/mL}$), pero con tasas de supervivencia acumulada, significativamente superiores que el grupo control, tanto en las larvas tratadas con aceite de canela o el cinamaldehído. Solo la concentración ($32.5 \mu\text{g/mL}$) más baja evaluada de ambos productos no mostró mejora en la supervivencia de las larvas tras la exposición al *V. parahaemolyticus* (Tabla 4).

Tabla 4. Supervivencia acumulada registrada a distintas concentraciones del aceite de canela y a su compuesto activo

Tratamientos	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Supervivencia acumulada a 72 h (%)
Aceite de canela	31.2	22.1 ± 4.1^a
	62.5	67.0 ± 1.7^b
	125	86.4 ± 1.4^c
	250	97.0 ± 0.5^d
Cinamaldehído	31.2	33.9 ± 10.5^a
	62.5	70.3 ± 1.2^b
	125	89.7 ± 0.5^c
	250	94.5 ± 3.2^d
Control		20.0 ± 5.6^a

Las curvas de supervivencia de Kaplan–Meier evidencian el efecto protector del aceite de canela y cinamaldehído, la disminución de la supervivencia comenzó aproximadamente a las 8 horas posteriores al desafío y se acentuó entre las 16 y 32 horas, alcanzando una probabilidad de supervivencia cercana al 20 % al finalizar el experimento (Fig. 4). En contraste, las postlarvas tratadas con aceite esencial de orégano mostraron una respuesta protectora dependiente de la concentración. El tratamiento con 31,2 $\mu\text{g/mL}$ produjo una reducción parcial de la mortalidad respecto al control, alcanzando una supervivencia final aproximada del 34 % (Fig. 4). La concentración de 62,5 $\mu\text{g/mL}$ incrementó significativamente la supervivencia, con un valor final cercano al 70 %, evidenciando una disminución considerable de la mortalidad inducida por el patógeno.

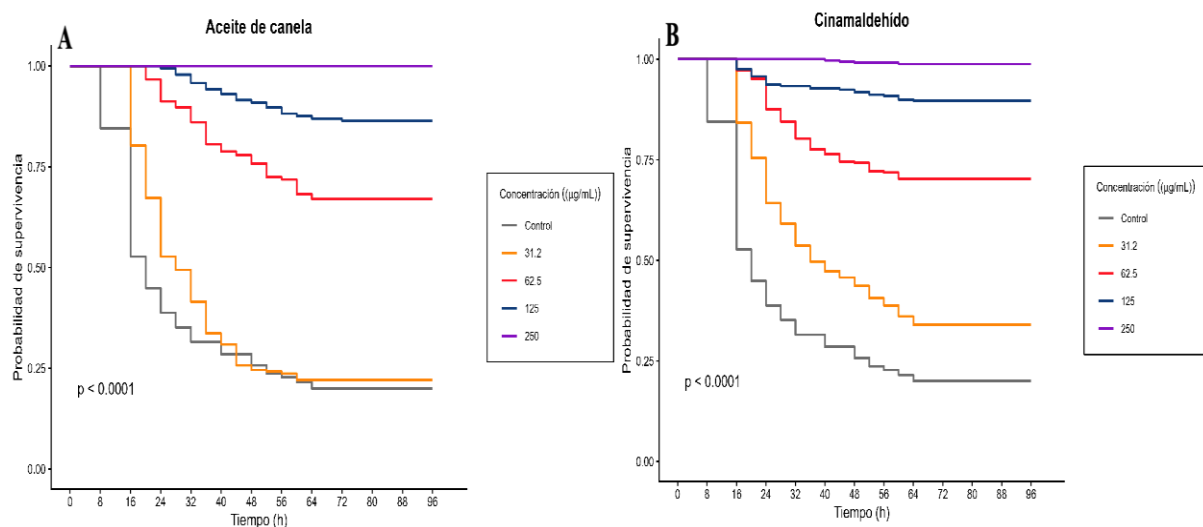


Figura 4. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier correspondientes a post-larvas de camarón previamente tratadas durante cuatro días con diferentes concentraciones de aceite esencial de canela (4A) y cinamaldehído (4B), desafiadas con *Vibrio parahaemolyticus*.

Los tratamientos con 125 µg/mL y 250 µg/mL mostraron el mayor efecto protector. En el grupo tratado con 125 µg/mL, la supervivencia permaneció superior al 90 % durante todo el período de evaluación, observándose únicamente una disminución leve y gradual. La concentración de 250 µg/mL mantuvo una supervivencia prácticamente del 100 % hasta las 96 horas posteriores al desafío, con una mortalidad mínima durante todo el experimento.

El análisis de supervivencia reveló diferencias altamente significativas entre los grupos experimentales (Log-rank, $p < 0,0001$), indicando que el tratamiento previo con aceite esencial de canela y cinamaldehído modifican significativamente la probabilidad de supervivencia de las post-larvas frente a la infección por *Vibrio parahaemolyticus*. La supervivencia de las postlarvas fue monitoreada durante un período de 96 horas (4 días) post-desafío.

7. Discusión

Las vibriosis, enfermedades bacterianas causadas por *Vibrio* spp., incluyendo *parahaemolyticus*, *V. campbellii* y *V. harveyi* continúan siendo una de las principales limitantes para la producción mundial de camarón (Vandeputte et al., 2024). En particular, las cepas de

V. parahaemolyticus portadoras del plásmido pVA1 y de las toxinas binarias PirA/PirB (Lin et al., 2017), responsables de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), han ocasionado mortalidades de hasta el 100 % durante los primeros 30–35 días de cultivo y pérdidas económicas superiores a 43 mil millones de dólares entre 2010 y 2016 (Restrepo et al., 2016; Kumar et al., 2021). Paralelamente, el uso intensivo de antibióticos ha favorecido la aparición de cepas multirresistentes, impulsando la búsqueda de alternativas terapéuticas de origen natural (Hossain et al., 2022). En este contexto, los resultados del presente estudio demuestran que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*, y su principal compuesto (E)-cinamaldehído, constituye una alternativa promisoría para el control de la vibriosis en la larvicultura de *Penaeus vannamei*. El aceite esencial mostró una marcada actividad bactericida frente a *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* y *V. campbellii* a concentraciones ≥ 250 $\mu\text{g/mL}$, baja citotoxicidad sobre hemocitos a dosis terapéuticas y un mayor margen de seguridad que el cinamaldehído. Además, incrementó significativamente la supervivencia de las postlarvas desafiadas con *V. parahaemolyticus* y redujo las lesiones histopatológicas asociadas con AHPND, respaldando su potencial como una estrategia sostenible para complementar o sustituir el uso de antibióticos en la acuicultura del camarón.

La composición del aceite esencial de canela obtenida en el presente estudio coincide con la descrita por Alizadeh-Behbahani et al. (2020) para *Cinnamomum zeylanicum*, donde el (E)-cinamaldehído fue el componente predominante, acompañado por linalool, β -cariofileno y eugenol, metabolitos asociados con la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial. De manera similar, Ben-Selma et al. (2025) y Živković et al. (2025) señalaron que el predominio del (E)-cinamaldehído constituye el principal determinante de las propiedades biológicas del aceite de canela, mientras que Liu et al. (2023) destacaron que las diferencias en la actividad biológica entre aceites esenciales están estrechamente relacionadas con su composición química. Esto sugieren que la elevada proporción de cinamaldehído constituye la principal base química de la actividad microbicida frente a *Vibrio* spp., aunque la participación de monoterpenos oxigenados y compuestos fenólicos presentes en menor proporción podría contribuir mediante efectos sinérgicos.

Los ensayos microbiológicos evidenciaron que tanto el aceite esencial como el cinamaldehído ejercieron una actividad inhibitoria dependiente de la concentración sobre las

tres especies de *Vibrio*. Las concentraciones entre 7,81 y 62,5 µg/mL únicamente retrasaron el crecimiento bacteriano, mientras que 125 µg/mL prolongó considerablemente la fase de latencia, indicando un efecto predominantemente bacteriostático, estos resultados coincide con lo reportado previamente para el cinamaldehído frente a *V. parahaemolyticus* por Zhang et al. (2017) donde el cinamaldehído acelera la inactivación de *V. parahaemolyticus*. En contraste, las concentraciones iguales o superiores a 250 µg/mL inhibieron completamente el crecimiento durante las 24 horas de evaluación, comportamiento que coincidió con los valores de MIC y MBC obtenidos para las tres cepas. Aunque existen pocos antecedentes frente a *Vibrio* patógenos de camarón, Alibi et al. (2022) describieron una marcada actividad antibacteriana del aceite esencial de canela y del cinamaldehído frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas multirresistentes, mientras que Terrazas-Pineda et al. (2024) destacaron el potencial del aceite esencial como una alternativa natural para el control de patógenos bacterianos en acuicultura. La similitud entre los valores de MIC y MBC obtenidos con el aceite esencial y el cinamaldehído, especialmente en *V. harveyi* y *V. campbellii*, sugiere además que el cinamaldehído constituye el principal responsable de la actividad antimicrobiana del aceite, considerando que representa más del 70 % de su composición.

El comportamiento observado puede explicarse por los múltiples mecanismos de acción descritos para el aceite esencial de canela y su principal componente, el cinamaldehído, sobre bacterias Gram negativas. La actividad antimicrobiana se atribuye principalmente a la naturaleza hidrofóbica de los compuestos terpénicos y fenilpropanoides, que les permite incorporarse a la bicapa lipídica de la membrana citoplasmática, alterando su integridad y permeabilidad, lo que ocasiona la fuga de iones, ATP y otros metabolitos esenciales para la viabilidad celular (Chouhan et al., 2017). Aunque las bacterias Gram negativas poseen una membrana externa rica en lipopolisacáridos que constituye una barrera frente a moléculas hidrofóbicas, estos compuestos pueden atravesarla a través de canales de porina, alcanzando la membrana interna y el citoplasma, donde ejercen su acción antimicrobiana (Vasconcelos et al., 2018).

Diversos estudios han demostrado que el cinamaldehído incrementa la permeabilidad y la conductividad de la membrana, induce peroxidación lipídica, provoca la despolarización de la membrana citoplasmática, disminuye los niveles intracelulares de ATP y favorece la

acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), generando un profundo desequilibrio fisiológico en la célula bacteriana (Zhan et al., 2025). Adicionalmente, este compuesto inhibe la actividad de ATPasas y de la proteína FtsZ, indispensable para la formación del anillo de división celular, además de reducir la síntesis proteica, interferir con la formación de biopelículas y alterar los sistemas de *quorum sensing*, limitando la colonización, la persistencia y la virulencia bacteriana (Terrazas-Pineda et al., 2024; Wang et al., 2020). En conjunto, estos mecanismos explican el efecto bacteriostático observado a 125 µg/mL, caracterizado por la prolongación de la fase de latencia, y la inhibición completa del crecimiento bacteriano a concentraciones iguales o superiores a 250 µg/mL, evidenciada en el presente estudio.

Estos resultados concuerdan con la disminución de la viabilidad bacteriana y el incremento significativo de la supervivencia de las postlarvas desafiadas con *Vibrio parahaemolyticus*, donde tanto el aceite esencial como el cinamaldehído alcanzaron porcentajes de supervivencia cercanos al 100 % a 250 µg/mL. La similitud entre ambos tratamientos confirma que el cinamaldehído constituye el principal metabolito responsable de la actividad microbica del aceite esencial; sin embargo, la presencia de compuestos minoritarios como eugenol, linalool y α -terpineol probablemente potencia su eficacia mediante interacciones aditivas o sinérgicas, ampliando su espectro de acción y respaldando el uso del aceite esencial de canela como una alternativa promisorio al empleo de antibióticos convencionales en la acuicultura (Liu et al., 2023; Terrazas-Pineda et al., 2024).

La diferencia en los valores de MIC y MBC entre especies, con una mayor tolerancia registrada en *V. campbellii* frente a *V. parahaemolyticus* y *V. harveyi*, sugiere que, además de factores estructurales de la envoltura celular, podrían estar involucrados sistemas reguladores de virulencia como el quorum sensing (QS). En *Vibrio* spp., el regulador OpaR (homólogo de LuxR en *V. harveyi*) controla de forma coordinada la formación de biopelículas, la motilidad y otros factores de virulencia (Huang et al., 2024), a su vez se ha demostrado que el cinamaldehído y sus derivados halogenados son capaces de interferir con las vías de señalización mediadas por autoinductores AI-1 y AI-2, disminuyendo la expresión de genes relacionados con Quorum sensing, biopelícula y virulencia en *V. parahaemolyticus* (Faleye et al., 2021). Esta capacidad de modular el QS, sumada al efecto microbica directo, podría contribuir a explicar por qué las concentraciones más altas evaluadas en el presente estudio

lograron una inhibición completa y sostenida del crecimiento bacteriano durante las 24 horas de exposición, de forma comparable al control positivo con antibiótico, y respalda la hipótesis de que la susceptibilidad diferencial entre cepas de *Vibrio* no depende únicamente de la concentración del compuesto activo, sino también de particularidades fisiológicas y regulatorias propias de cada especie (Fazlurrahman et al., 2020; Pazhani et al., 2021).

Los resultados confirmaron que el aceite esencial de canela y el cinamaldehído presentan baja citotoxicidad en hemocitos a concentraciones menores de 125 µg/mL, manteniendo la viabilidad celular en rangos seguros; sin embargo, estudios previos evidencian un efecto dosis-dependiente, ya que a concentraciones elevadas (0,25-1 mg/mL) el aceite esencial de canela redujo la viabilidad de células MRC-5 a menos del 10 % obtenido (Ganić et al., 2022), mientras que en la investigación Siugzdaite et al. (2025), el cinamaldehído mostró toxicidad entre 0,1 % y 0,0125 % v/v y el aceite esencial de canela provocó despedimientos y pérdida de la monocapa en células. Estos hallazgos demuestran que ambos compuestos son seguros a bajas dosis, pero altamente tóxicos en concentraciones superiores.

Ferrando et al. (2026) mencionan que el cinamaldehído ejerció toxicidad significativa en organismos acuáticos como *Daphnia magna*, con un valor estimado de EC50 (concentración efectiva) bajo que evidenció alta sensibilidad en los primeros estadios; de igual manera, Wang et al. (2018) demostraron que este compuesto provoca alteraciones morfológicas y daños en membranas celulares, lo que explico la alta mortalidad observada en camarones en etapa zoea. Además, Niu et al. (2025) advierten que el cinamaldehído llega a transformarse en subproductos persistentes e irritantes bajo irradiación UV. Los que respaldan los resultados de esta investigación en donde se observó que las larvas de camarón en etapa zoea fueron susceptibles en los dos aceites evaluados, mientras que, en el estadio más avanzado de PL3 Y PL8 la supervivencia no se vio comprometida, evidenciando que la vulnerabilidad disminuye conforme avanza el desarrollo larvario.

El estudio de Domínguez-Borbor et al. (2020) demostró que el aceite esencial de canela presenta una toxicidad marcada en estadios larvarios tempranos de camarones, ya que en la fase Zoea redujo significativamente la supervivencia en todas las concentraciones probadas, con un valor de LC₅₀ de 139, 75 µg/mL, lo que evidencia la alta sensibilidad en la etapa. En el

presente trabajo se evidencio que las larvas de *P. vannamei* en los estadios tempranos también resultaron más sensibles a los aceites evaluados, reflejado en los valores de LC₅₀ más en Zoea (139,7 y 208,2 µg/mL), frente a los valores más altos de PL3 (433,6 y 475,2 µg/mL), es importante señalar que los valores de este estudio fueron más elevados que los reportados por Domínguez-Borbor et al. (2020) lo que sugiere posibles diferencias en metodología o en las concentraciones evaluadas.

Estos resultados refuerzan el interés por incorporar el aceite esencial de canela y el cinamaldehído como fitobióticos dentro de estrategias de manejo sanitario en el cultivo de camarón, en sustitución parcial o total de los antibióticos convencionales cuyo uso indiscriminado ha sido señalado como uno de los principales impulsores de la resistencia antimicrobiana en los sistemas de cultivo de camarón. Otros agentes naturales, como el ácido protocatecuico y los conjugados de quitosano-gentamicina, han mostrado igualmente actividad microbicida y capacidad de reducir el daño intestinal asociado a la infección por *V. parahaemolyticus* en camarón (Li et al., 2022) lo que evidencia una tendencia creciente hacia el desarrollo de alternativas antimicrobianas de origen natural para el control de la vibriosis.

No obstante, los valores de MIC y MBC obtenidos en el presente estudio, del orden de 180 a 300 µg/mL, se sitúan dentro de un rango que debe ser validado en condiciones in vivo, considerando la biodisponibilidad, la estabilidad y la posible citotoxicidad del cinamaldehído sobre la hepatopáncreas y otros tejidos del camarón, así como su eventual encapsulación o vehiculización para mejorar su aplicabilidad en dietas o en el ambiente de cultivo. Futuros estudios que integren ensayos de desafío experimental con las especies de *Vibrio* patógenas evaluadas, así como la determinación de los mecanismos moleculares específicos de acción sobre la membrana y el sistema de *quorum sensing*, permitirán consolidar al aceite esencial de canela y al cinamaldehído como componentes viables de programas de bioseguridad y control de enfermedades bacterianas en la industria camaronera.

8. Conclusión

Los resultados demuestran que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* constituye una alternativa natural promisorio para el control de la vibriosis en la larvicultura de *Penaeus vannamei*. Su composición química estuvo dominada por el (E)-cinamaldehído (71,5 %), acompañado de monoterpenos y compuestos fenólicos que, en conjunto, podrían contribuir mediante interacciones sinérgicas a su actividad biológica. Tanto el aceite esencial como el cinamaldehído exhibieron una marcada actividad bactericida frente a *Vibrio parahaemolyticus*, *V. campbellii* y *V. harveyi*, inhibiendo completamente el crecimiento bacteriano a concentraciones $\geq 250 \mu\text{g mL}^{-1}$ y presentando valores de MIC y MBC entre 180 y $300 \mu\text{g mL}^{-1}$. Además, el aceite esencial mostró no afectar significativamente la viabilidad de hemocitos a concentraciones terapéuticas y presentar un mayor margen de seguridad que el cinamaldehído.

Los ensayos *in vivo* evidenciaron que la susceptibilidad al tratamiento disminuyó conforme avanzó el desarrollo larvario, siendo las larvas Zoeas el estadio más sensible y las postlarvas PL8 el más tolerante. Finalmente, la administración preventiva del aceite esencial incrementó significativamente la supervivencia de las postlarvas desafiadas con *V. parahaemolyticus* causante de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), alcanzando supervivencias cercanas al 100 % y reduciendo las lesiones histopatológicas características de la enfermedad. En conjunto, estos hallazgos evidencian que el aceite esencial de *C. zeylanicum* combina una elevada eficacia antimicrobiana, baja toxicidad y un importante efecto protector frente a AHPND, respaldando su potencial como fitobiótico para fortalecer las estrategias de bioseguridad y reducir la dependencia de antibióticos en la acuicultura del camarón; no obstante, son necesarios estudios adicionales bajo condiciones comerciales que evalúen su estabilidad, biodisponibilidad, formulación e impacto sobre el microbioma y la respuesta inmunitaria del hospedador antes de su implementación a gran escala.

9. Recomendaciones

- a) Evaluar el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* en condiciones comerciales de larvicultura y precría para confirmar su eficacia frente a *Vibrio* spp. bajo diferentes condiciones ambientales, densidades de cultivo y sistemas de producción.
- b) Desarrollar formulaciones estables y eficientes (microencapsulación, nanoemulsiones o recubrimiento de alimentos) que mejoren la estabilidad, biodisponibilidad y liberación controlada de los compuestos bioactivos durante el almacenamiento y la administración.
- c) Determinar las dosis óptimas y los períodos de administración preventiva para maximizar el efecto protector frente a AHPND, minimizando posibles efectos adversos sobre los diferentes estadios larvarios, especialmente en las etapas tempranas de desarrollo.
- d) Investigar los mecanismos de acción del aceite esencial y de sus compuestos bioactivos, incluyendo su influencia sobre la respuesta inmunitaria, la expresión de genes relacionados con la defensa del hospedador, el estrés oxidativo y la composición del microbioma intestinal y del agua de cultivo.
- e) Evaluar el efecto del uso prolongado del aceite esencial sobre el crecimiento, supervivencia, calidad fisiológica de las postlarvas y parámetros productivos, así como su posible interacción con probióticos, prebióticos y otras estrategias de bioseguridad empleadas en la industria camaronera.
- f) Realizar estudios de costo-beneficio, escalabilidad y evaluación ambiental que permitan establecer la viabilidad técnica, económica y regulatoria de incorporar el aceite esencial de *C. zeylanicum* como fitobiótico dentro de los programas de manejo sanitario en la acuicultura comercial de *Penaeus vannamei*.

10. Referencias

- Alhassan, M. Y., Kabara, M. K., Ahmad, A. A., Abdulsalam, J., & Habib, H. I. (2025). Revisiting antibiotic stewardship: veterinary contributions to combating antimicrobial resistance globally. *Bulletin of the National Research Centre*, 49(1), 1-9.
- Alibi, S., Selma, W. B., Mansour, H. B., & Navas, J. (2022). Activity of essential oils against multidrug-resistant *Salmonella enteritidis*. *Current microbiology*, 79(9), 273.
- Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M., & Tabatabaee Yazdi, F. (2020). Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020(1), 5190603.
- Ben Selma, W., Ferjeni, S., Farouk, A., Marzouk, M., & Boukadida, J. (2025). Antimicrobial activity of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil against colistin-resistant gram-negative bacteria. *International Journal of Environmental Health Research*, 35(1), 169-181.
- Bouguerra, N., Boukoucha, M., Menasria, T., Horchani, M., & Ben Jannet, H. (2026). Exploring the Antibacterial Potential of *Cinnamomum Zeylanicum* Essential Oil: a Multifaceted Approach Through In vitro Assays, Molecular Docking and ADME Analysis. *Chemistry Africa*, 9(2), 112.
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- Deng, Y., Paraskevas, D., Tian, Y., Van Acker, K., Dewulf, W., & Duflou, J. R. (2016). Life cycle assessment of flax-fibre reinforced epoxidized linseed oil composite with a flame retardant for electronic applications. *Journal of Cleaner Production*, 133, 427-438.
- Domínguez-Borbor, C., Chalén-Alvarado, B., & Rodríguez, J. A. (2018). A simple in vitro method to evaluate the toxicity of functional additives used in shrimp aquaculture. *MethodsX*, 5, 90-95.
- Domínguez Borbor, C., & Rodríguez León, J. A. (2020). *Aceites Esenciales Como Inhibidores de la Virulencia de Vibrio spp. Patógenos de Camarón P. vannamei* (Doctoral dissertation, ESPOL. FIMCM: Maestría en Ciencias).

Domínguez-Borbor, C., Ardiles, V., Bermeo, M., Bolívar-Alvarado, C., Tomalá, C., Sonnenholzner, S., & Rodríguez, J. A. (2019). The marine symbiont *Pseudovibrio denitrificans*, is effective to control pathogenic *Vibrio* spp. in shrimp aquaculture. *Aquaculture*, 508, 127-136.

Dubert, J., Barja, J. L., & Romalde, J. L. (2017). New insights into pathogenic *Vibrios* affecting bivalves in hatcheries: present and future prospects. *Frontiers in microbiology*, 8, 762.

Faleye, O. O., Faleye, O. S., Lee, J. H., & Lee, J. (2024). Antibacterial and antibiofilm activities of iodinated hydrocarbons against *Vibrio parahaemolyticus* and *Staphylococcus aureus*. *Scientific Reports*, 14(1), 9160.

Fazlurrahman, K., Nazia, T., Raksha, A., & Young-Mog, K. (2020). Motility of *Vibrio* spp.: regulation and controlling strategies. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(19), 8187-8208.

Ferrando, N., Pino-Otín, M. R., Ballester, D., Lorca, G., Terrado, E. M., & Langa, E. (2024). Enhancing commercial antibiotics with trans-cinnamaldehyde in Gram-positive and Gram-negative bacteria: An in vitro approach. *Plants*, 13(2), 192.

Ferrando, N., Langa, E., Botello-Morte, L., Rodríguez-López, P., Ballester, D., & Pino-Otín, M. R. (2026). Trans-Cinnamaldehyde as an Environmentally Low-Impact Phytosanitary: Evaluation of Its Toxicity Toward Aquatic and Terrestrial Non-Target Species. *Journal of Xenobiotics*, 16(3), 86. <https://doi.org/10.3390/JOX16030086/S1>

Ganić, T., Vuletić, S., Nikolić, B., Stevanović, M., Kuzmanović, M., Kekić, D., Đurović, S., Cvetković, S., & Mitić-Ćulafić, D. (2022). Cinnamon essential oil and its emulsion as efficient antibiofilm agents to combat *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 989667. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.989667/TEXT>

Hossain, M. S., Karuniawati, H., Jairoun, A. A., Urbi, Z., Ooi, D. J., John, A., ... & Hadi, M. A. (2022). Colorectal cancer: a review of carcinogenesis, global epidemiology, current challenges, risk factors, preventive and treatment strategies. *Cancers*, 14(7), 1732.

Huang, Q., Zhang, Y., Zhang, M., Li, X., Wang, Q., Ji, X., ... & Lu, R. (2024). Assessment of Vibrionaceae prevalence in seafood from Qidong market and analysis of *Vibrio parahaemolyticus* strains. *Plos one*, 19(8), e0309304.

Jayasree, L., Janakiram, P., & Madhavi, R. (2006). Characterization of *Vibrio* spp. associated with diseased shrimp from culture ponds of Andhra Pradesh (India). *Journal of the world aquaculture society*, 37(4), 523-532.

Juarez, L. M., Moss, S. M., & Figueras, E. (2010). Maturation and larval rearing of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. In *The shrimp book* (pp. 305-352). GB: CABI.

Kumar, V., Roy, S., Behera, B. K., Bossier, P., & Das, B. K. (2021). Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): virulence, pathogenesis and mitigation strategies in shrimp aquaculture. *Toxins*, 13(8), 524.

Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., ... & Bolton, E. E. (2025). PubChem 2025 update. *Nucleic acids research*, 53(D1), D1516-D1525.

Lai, H. C., Ng, T. H., Ando, M., Lee, C. T., Chen, I. T., Chuang, J. C., ... & Wang, H. C. (2015). Pathogenesis of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. *Fish & shellfish immunology*, 47(2), 1006-1014.

Li, P., Kinch, L. N., Ray, A., Dalia, A. B., Cong, Q., Nunan, L. M., ... & Orth, K. (2017). Acute hepatopancreatic necrosis disease-causing *Vibrio parahaemolyticus* strains maintain an antibacterial type VI secretion system with versatile effector repertoires. *Applied and environmental microbiology*, 83(13), e00737-17.

Lim, C., & Akiyama, D. M. (1995). Nutrient requirements of penaeid shrimp. *Nutrition and utilization technology in aquaculture*, 60-73.

Lin, S. J., Hsu, K. C., & Wang, H. C. (2017). Structural insights into the cytotoxic mechanism of *Vibrio parahaemolyticus* PirA vp and PirB vp toxins. *Marine drugs*, 15(12), 373.

Liu, X., Li, H., He, D., Wang, P., Li, Y., & Wu, K. (2023). Effect of cinnamon essential oil dietary supplementation on the growth, fatty acid composition, and meat quality of tilapia. *Journal of Food Science*, 88(12), 5266-5277.

Marcillo, F. (2017). Shrimp farming and the environment in Ecuador: Past and present. *World Aquaculture*, 48(3), 39-42.

Morocho, V., Aguilar, Y., Cruz, C., Cumbicus, N., Andrade, J. M., & Montalvan, M. (2024). Chemical Composition, Enantiomeric Distribution, and Physical Properties of the Fruit Essential Oil from *Zanthoxylum lepidopteriphilum* (Reynel) Rutaceae from Ecuador. *Plants*, 13(20), 2834.

Niu, X., Wu, J., Chen, Y., Luo, N., & Gao, Y. (2025). Overlooked Photochemical Risk of Antimicrobial Fragrances: Formation of Potent Allergens and Their Mechanistic Pathways. *Toxics*, 13(5), 386. <https://doi.org/10.3390/TOXICS13050386/S1>

Pazhani, G. P., Chowdhury, G., & Ramamurthy, T. (2021). Adaptations of *Vibrio parahaemolyticus* to stress during environmental survival, host colonization, and infection. *Frontiers in microbiology*, 12, 737299.

Pinto Ferreira, J., Gochez, D., Jeannin, M., Magongo, M. W., Loi, C., Bucher, K., ... & Erlacher-Vindel, E. (2022). From OIE standards to responsible and prudent use of antimicrobials: Supporting stewardship for the use of antimicrobial agents in animals. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 4(2), dlac017.

Quinto, J. C., Noboa, L. U., Freire, J. S., & Pérez, P. C. (2025). The Economic impact of shrimp sector exports in Ecuador. *Revista Internacional de Estudios en Ciencias Administrativas STRATEGOS*, 5(2), 10-21.

Ramadhani, D. E., Hendriana, A., Wahjuningrum, D., & Mulya, M. A. (2022). Vibrio Dynamics and Health Status of Pacific White Shrimp Fed with Cinnamaldehyde-Containing Feed. *Scientific Journal of Fisheries & Marine/Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 14(2).

Restrepo, L., Bayot, B., Arciniegas, S., Bazaña, L., Betancourt, I., Panchana, F., & Reyes Muñoz, A. (2018). PirVP genes causing AHPND identified in a new *Vibrio* species (*Vibrio punensis*) within the commensal *Orientalis* clade. *Scientific reports*, 8(1), 13080.

Sharififar, F., Moshafi, M. H., Dehghan-Nudehe, G., Ameri, A., Alishahi, F., & Pourhemati, A. (2009). Bioassay screening of the essential oil and various extracts from 4 spices medicinal plants. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 22(3).

Shafiee, N. S., Mazlan, N., Abd Rahman, N. N., Shapawi, R., & Shah, M. D. (2024). Vibriosis in aquaculture: pathogenic *Vibrio* species, affected animals, diagnosis and adverse effects. *Essentials of aquaculture practices*, 113-138.

Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D., & Van Griensven, L. J. (2010). Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15(11), 7532-7546.

Siugzdaite, J., Rutkaite, R., Bendoraitiene, J., Saghrouchni, H., Hamijo, T., & Lelesius, R. (2025). An Evaluation of the Antibacterial and Cytotoxic Activities of Essential Oils and Their Emulsions Against Nosocomial Pathogens. *Processes*, 13(5), 1531. <https://doi.org/10.3390/PR13051531/S1>

Soto-Rodriguez, S. A., Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., Bolanmejia, C., Aguilar-Rendon, K. G., & Enciso-Ibarra, J. (2018). Pathological, genomic and phenotypical characterization of *Vibrio parahaemolyticus*, causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. *Asian Fish Sci*, 31, 102-111.

Terrazas-Pineda, K. A., Alamilla-Beltrán, L., Acero-Ortega, C. A., Damas-Espinoza, J. A., Calderón-Domínguez, G., Mora-Escobedo, R., ... & Gómez-de Anda, F. R. (2025). Antimicrobial activity of cinnamon, tea tree, and thyme essential oils against pathogenic bacteria isolated from tilapia (*Oreochromis* spp.) in aquaculture farms. *Molecules*, 30(13), 2799.

Vasconcelos, N. G., Croda, J., & Simionatto, S. (2018). Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. *Microbial pathogenesis*, 120, 198-203.

Vandeputte, M., Kashem, M. A., Bossier, P., & Vanrompay, D. (2024). *Vibrio* pathogens and their toxins in aquaculture: A comprehensive review. *Reviews in Aquaculture*, 16(4), 1858-1878.

Xue, M., He, Y., Chen, D., Wang, L., Liang, H., Liu, J., & Wen, C. Q. (2020). Temporal dynamics of aquatic microbiota and their correlation with environmental factors during larviculture of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 529, 735605.

Wang, L., Jin, J., Liu, X., Wang, Y., Liu, Y., Zhao, Y., & Xing, F. (2018). Effect of Cinnamaldehyde on Morphological Alterations of *Aspergillus ochraceus* and Expression of Key Genes Involved in Ochratoxin A Biosynthesis. *Toxins* 2018, Vol. 10, Page 340, 10(9), 340. <https://doi.org/10.3390/TOXINS10090340>

Wang, R., Guo, Z., Tang, Y., Kuang, J., Duan, Y., Lin, H., ... & Huang, J. (2020). Effects on development and microbial community of shrimp *Litopenaeus vannamei* larvae with probiotics treatment. *Amb Express*, 10(1), 109.

Zhan, L., Ge, J., Xia, L., & Zhang, Y. (2025). Reciprocal regulation between bacterial secretion systems and host metabolism: Enhancing bacterial intracellular survival capability. *Microbiological Research*, 292, 128025.

Zhang, S. P., Li, J. F., Wu, X. C., Zhong, W. J., Xian, J. A., Liao, S. A., ... & Wang, A. L. (2013). Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 34(5), 1131-1138.

Živković, M., Stanisavljević, I., Gajović, N., Pavlović, S., Simović Marković, B., Jovanović, I. P., ... & Barjaktarević, A. (2025). Comprehensive phytochemical analysis and evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, and immunomodulatory activities of commercial cinnamon bark essential oil (*Cinnamomum zeylanicum* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 26(13), 6482.

11. ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVO GENERAL	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Cuál es el efecto antimicrobiano del aceite esencial de canela <i>Cinnamomum zeylanicum</i> y de su compuesto activo sobre <i>Vibrio</i> sp. asociado a la larvicultura de <i>Penaeus vannamei</i> ?	Evaluar el efecto antimicrobiano del aceite de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> y su compuesto activo contra <i>Vibrio</i> spp. en la larvicultura de <i>Penaeus vannamei</i> para determinar su potencial como herramienta de manejo sanitario.	a) Determinar el efecto de diferentes concentraciones de aceite de canela y su compuesto activo sobre la carga de <i>Vibrios</i> spp. b) Analizar la relación dosis–respuesta entre la concentración de aceite y la reducción de vibrios, así como su impacto en parámetros microbiológicos de calidad del agua. c) Determinar el perfil químico del aceite de canela, mediante la identificación y cuantificación de sus principales componentes.	Variable independiente • Aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>. • Compuesto activo (cinamaldehído) Variable dependiente • Actividad antimicrobiana frente a <i>Vibrios</i> spp. Indicadores: Halo de inhibición (mm). Concentración mínima inhibitoria (CMI). Concentración mínima bactericida (CMB). Crecimiento bacteriano (UFC mL⁻¹ o absorbancia).	Tipo de investigación Aplicada, cuantitativa, experimental. Nivel de investigación Explicativo. Población Cepas de <i>Vibrio</i> spp. aisladas de laboratorios de larvicultura de <i>Penaeus vannamei</i>. Muestra y tipo de muestreo Cepas de <i>Vibrio</i> spp. seleccionadas mediante muestreo no probabilístico por conveniencia, considerando aquellas aisladas e identificadas durante el estudio. Diseño de investigación Experimental completamente al azar, con tratamientos correspondientes a diferentes concentraciones del aceite esencial y del compuesto activo, incluyendo un control positivo (antibiótico) y un control negativo. Métodos • Método experimental. • Método analítico-sintético. • Método inductivo-deductivo.

				• Método estadístico. Técnicas e instrumentos • Aislamiento e identificación microbiológica de <i>Vibriospp.</i> • Difusión en agar (Kirby-Bauer). • Determinación de CMI y CMB mediante microdilución en caldo. • Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC). • Cromatografía de gases (GC-MS) para caracterización del aceite (si aplica). • Análisis estadístico mediante ANOVA y prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$), previa verificación de normalidad y homogeneidad de varianzas.
--	--	--	--	--

Toxicidad *in vitro* e *in vivo* del aceite esencial de canela y el cinamaldehído

RESULTADOS ESTADÍSTICOS: Aceite de canela

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamiento	7	0.05480	0.007829	5.894	0.000458 ***
Residuals	24	0.03188	0.001328		

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

 PRUEBA DE TUKEY (Comparaciones múltiples)

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = Absorbancia ~ Tratamiento, data = datos_long)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
15.6 - 7.8 == 0	0.00650	0.02577	0.252	1.00000
31.2 - 7.8 == 0	-0.00725	0.02577	-0.281	0.99999
62.5 - 7.8 == 0	-0.00125	0.02577	-0.049	1.00000
125 - 7.8 == 0	-0.03750	0.02577	-1.455	0.82253
250 - 7.8 == 0	-0.08050	0.02577	-3.124	0.07423 .
500 - 7.8 == 0	-0.11175	0.02577	-4.336	0.00468 **
Control - 7.8 == 0	-0.00100	0.02577	-0.039	1.00000
31.2 - 15.6 == 0	-0.01375	0.02577	-0.534	0.99932
62.5 - 15.6 == 0	-0.00775	0.02577	-0.301	0.99999
125 - 15.6 == 0	-0.04400	0.02577	-1.707	0.68265
250 - 15.6 == 0	-0.08700	0.02577	-3.376	0.04347 *
500 - 15.6 == 0	-0.11825	0.02577	-4.589	0.00246 **
Control - 15.6 == 0	-0.00750	0.02577	-0.291	0.99999
62.5 - 31.2 == 0	0.00600	0.02577	0.233	1.00000
125 - 31.2 == 0	-0.03025	0.02577	-1.174	0.93181
250 - 31.2 == 0	-0.07325	0.02577	-2.842	0.13033
500 - 31.2 == 0	-0.10450	0.02577	-4.055	0.00916 **

Control - 31.2 == 0 0.00625 0.02577 0.243 1.00000
 125 - 62.5 == 0 -0.03625 0.02577 -1.407 0.84541
 250 - 62.5 == 0 -0.07925 0.02577 -3.075 0.08139 .
 500 - 62.5 == 0 -0.11050 0.02577 -4.288 0.00529 **
 Control - 62.5 == 0 0.00025 0.02577 0.010 1.00000
 250 - 125 == 0 -0.04300 0.02577 -1.669 0.70587
 500 - 125 == 0 -0.07425 0.02577 -2.881 0.12133
 Control - 125 == 0 0.03650 0.02577 1.416 0.84109
 500 - 250 == 0 -0.03125 0.02577 -1.213 0.92023
 Control - 250 == 0 0.07950 0.02577 3.085 0.08037 .
 Control - 500 == 0 0.11075 0.02577 4.298 0.00509 **

Signif. codes: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Adjusted p values reported -- single-step method)

RESUMEN DE GRUPOS CON LETRAS DE SIGNIFICANCIA

	Tratamiento	Media	SD	Letras
1	7.8	0.39875	0.02335773	ab
2	15.6	0.40525	0.02066196	b
3	31.2	0.39150	0.01201388	ab
4	62.5	0.39750	0.01206924	ab
5	125	0.36125	0.03150000	bc
6	250	0.31825	0.06535225	ac
7	500	0.28700	0.06089882	c
8	Control	0.39775	0.01977161	ab

RESULTADOS ESTADÍSTICOS: Cinamaldehído

ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamiento	7	0.04864	0.006949	13.65	5.41e-07 ***
Residuals	24	0.01222	0.000509		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

PRUEBA DE TUKEY (Comparaciones múltiples)

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: aov(formula = Absorbancia ~ Tratamiento, data = datos_long)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
15.6 - 7.8 == 0	-0.00575	0.01596	-0.360	0.99995
31.2 - 7.8 == 0	0.00600	0.01596	0.376	0.99993
62.5 - 7.8 == 0	-0.00150	0.01596	-0.094	1.00000
125 - 7.8 == 0	-0.03875	0.01596	-2.429	0.27218
250 - 7.8 == 0	-0.05875	0.01596	-3.682	0.02190 *
500 - 7.8 == 0	-0.11350	0.01596	-7.114	< 0.001 ***
Control - 7.8 == 0	-0.00225	0.01596	-0.141	1.00000
31.2 - 15.6 == 0	0.01175	0.01596	0.736	0.99482
62.5 - 15.6 == 0	0.00425	0.01596	0.266	0.99999

```

125 - 15.6 == 0   -0.03300   0.01596 -2.068 0.46116
250 - 15.6 == 0   -0.05300   0.01596 -3.322 0.04913 *
500 - 15.6 == 0   -0.10775   0.01596 -6.753 < 0.001 ***
Control - 15.6 == 0 0.00350   0.01596  0.219 1.00000
62.5 - 31.2 == 0  -0.00750   0.01596 -0.470 0.99970
125 - 31.2 == 0   -0.04475   0.01596 -2.805 0.14058
250 - 31.2 == 0   -0.06475   0.01596 -4.058 0.00907 **
500 - 31.2 == 0   -0.11950   0.01596 -7.490 < 0.001 ***
Control - 31.2 == 0 -0.00825   0.01596 -0.517 0.99944
125 - 62.5 == 0   -0.03725   0.01596 -2.335 0.31618
250 - 62.5 == 0   -0.05725   0.01596 -3.588 0.02726 *
500 - 62.5 == 0   -0.11200   0.01596 -7.020 < 0.001 ***
Control - 62.5 == 0 -0.00075   0.01596 -0.047 1.00000
250 - 125 == 0    -0.02000   0.01596 -1.254 0.90689
500 - 125 == 0    -0.07475   0.01596 -4.685 0.00201 **
Control - 125 == 0  0.03650   0.01596  2.288 0.33986
500 - 250 == 0    -0.05475   0.01596 -3.432 0.03853 *
Control - 250 == 0  0.05650   0.01596  3.541 0.02995 *
Control - 500 == 0  0.11125   0.01596  6.973 < 0.001 ***

```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Adjusted p values reported -- single-step method)

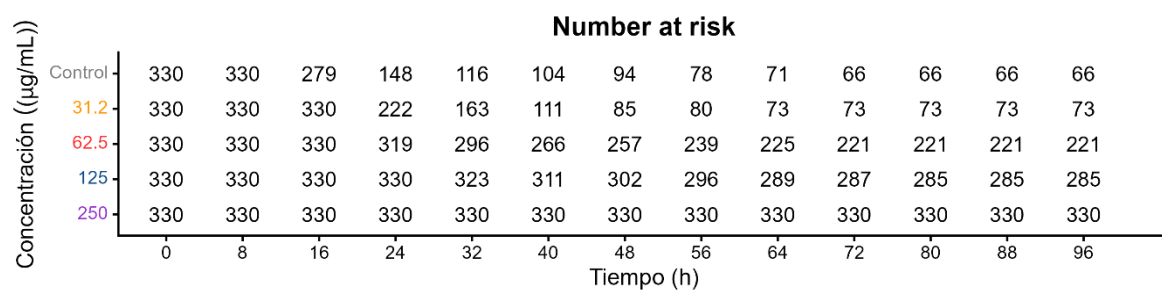
RESUMEN DE GRUPOS CON LETRAS DE SIGNIFICANCIA

	Tratamiento	Media	SD	Letras
1	7.8	0.40000	0.014832397	a
2	15.6	0.39425	0.008057088	a
3	31.2	0.40600	0.004760952	a
4	62.5	0.39850	0.017058722	a

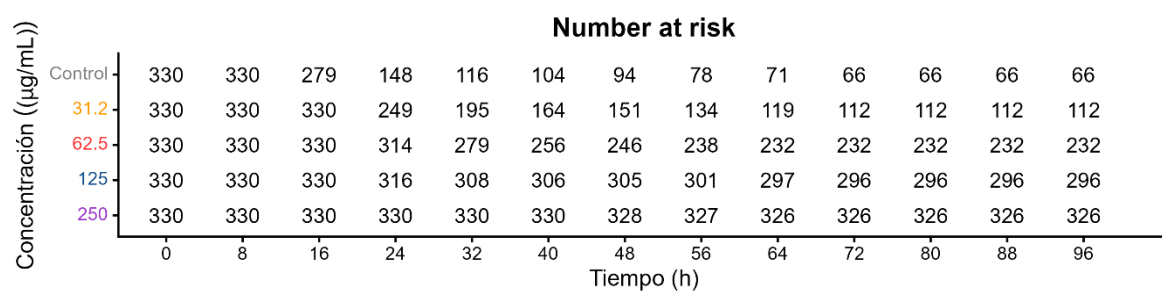
5	125	0.36125	0.031500000	ab
6	250	0.34125	0.014974979	b
7	500	0.28650	0.043208795	c
8	Control	0.39775	0.019771613	a

Datos de la prueba de desafío, probabilidad de supervivencia en función del tiempo

- Aceite esencial de canela



- Cinamaldehído



Anexo 2. Registro fotográfico.



Figura 5. Evaluación del aceite de canela *Cinnamomum zeylanicum* y su compuesto activo cinamaldehído.



Figura 6. Preparación de los tratamientos para la determinación de CMI



Figura 7. Extracción de la hemolinfa, en adultos de *P. vannamei*



Figura 8. Pruebas en vivo con postlarvas de *P. vannamei*

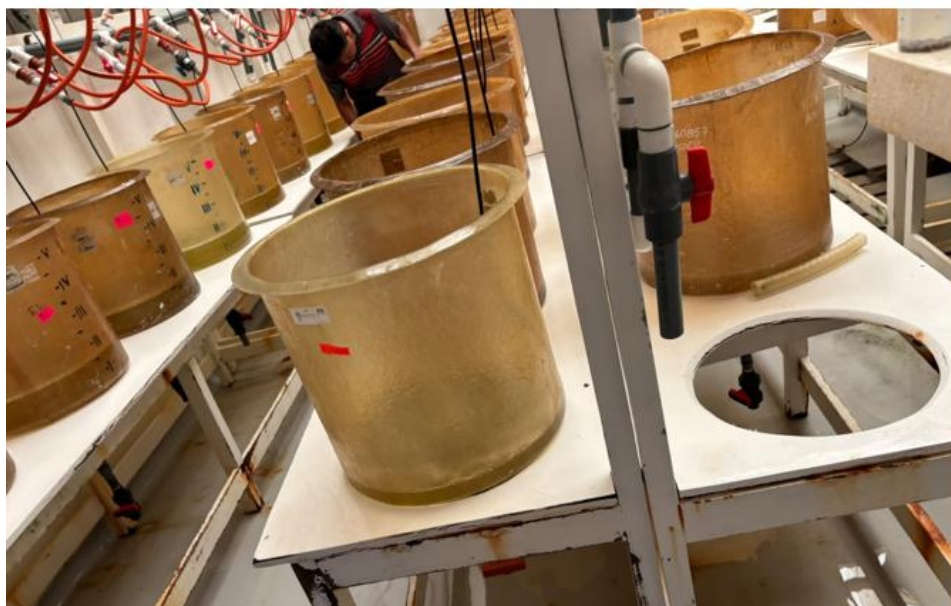


Figura 9. Tanques acondicionados para la prueba de desafío con postlarvas de *P. vannamei*



Figura 10. Configuración del lector de microplacas