



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

**EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DE UN CÓCTEL BACTERIANO  
APLICADO COMO PROBIÓTICO EN UN CULTIVO DE LARVAS DE CAMARÓN.**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**Previa a la obtención del Título de:**

**BIÓLOGA**

**AUTOR:**

**YULIANA RUBÍ BERNABÉ BRIONES**

**DOCENTE TUTOR:**

**AC. SONNYA MENDOZA LOMBANA, Ph.D.**

**LA LIBERTAD – ECUADOR**

**2026**

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

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DE UN CÓCTEL BACTERIANO  
APLICADO COMO PROBIÓTICO EN UN CULTIVO DE LARVAS DE CAMARÓN.”**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN.

Previo a la obtención del Título de:

**BIÓLOGA**

YULIANA RUBÍ BERNABÉ BRIONES

LA LIBERTAD – ECUADOR

2026

## **DEDICATORIA**

A Dios, por darme vida, fe y fortaleza, por poner en mi camino a quienes me sostuvieron y por levantar a mi familia en cada dificultad.

A mis padres, quienes invirtieron en mí de todas las formas posibles.

A mi madre, Rosa María Briones Sornoza, cuyo amor, lucha y fortaleza fueron mi ejemplo y mi refugio. Y a mi padre, Máximo Ricardo Bernabé Catuto, cuya guía y ejemplo de constancia, perseverancia y esfuerzo me enseñaron que el camino se construye paso a paso.

A mis hermanos Isaac Emanuelle y Evelyn Dayana, por su apoyo y por ser parte importante de este camino. Y, de manera especial, a mi hermano Lucas Andrés, cuyo apoyo incondicional hizo que este proceso fuera más llevadero. Gracias por escucharme, acompañarme y estar presente en cada momento, y por recordarme que los pequeños errores no son una derrota, sino una oportunidad de seguir aprendiendo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Expreso mi sincero agradecimiento a las autoridades y personal académico de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, por formarme profesionalmente.

A mi tutora, Ac. Sonnya Mendoza Lombana, Ph.D, por su orientación, paciencia y su invaluable apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. John Wire y a la empresa Dapetsa S.A, por la donación de todas las cepas del consorcio no comercial para su validación como posibles cepas antagónicas contra bacterias patógenas en larvicultura. Asimismo, agradezco a la empresa Duloder S.A por el apoyo brindado en el desarrollo de los análisis microbiológicos.

Al laboratorio Megalatina S.A y su personal, por abrirme sus puertas y permitirme desarrollar este proyecto en sus instalaciones.

A la Blga. Alba Mera García, por su paciencia, enseñanza y apoyo en los análisis microbiológicos y la redacción de este documento.

Y, finalmente, a Blas Orrala M, por acompañarme en este proceso, sostenerme en los momentos difíciles y brindarme su mano cuando más lo necesité.

# TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Bernabé Briones Yuliana Rubí**, como requisito parcial para la obtención del grado de Bióloga de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 12/08/2026

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

Blga. Ángela Reyes Láinez, Mgt.  
**DOCENTE DE ÁREA**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Ac. Sonnya Mendoza Lombana, Ph.D.  
**DOCENTE TUTOR**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

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

Lcdo. Pascual Roca Silestre, Mgtr.  
**SECRETARIO DEL TRIBUNAL**

## DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, **“Evaluación del efecto inhibitorio de un cóctel bacteriano aplicado como probiótico en un cultivo de larvas de camarón”** elaborado por **Bernabé Briones Yuliana Rubí**, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente:



Ac. Sonny Mendoza Lombana. PhD.

**Docente tutor**

**C.I.0912802816**

## **DECLARACIÓN DE DOCENTE DE ÁREA**

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular **"Evaluación del efecto inhibitorio de un cóctel bacteriano aplicado como probiótico en un cultivo de larvas de camarón"** elaborado por **Bernabé Briones Yuliana Rubí**, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Bióloga, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

**Atentamente**



---

Blga. Ángela Reyes Láinez, Mgt.

**DOCENTE DE ÁREA.**

CI: 0913401014

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

La responsabilidad por los datos, ideas, investigaciones y resultados presentados en el trabajo de titulación denominado **"Evaluación del efecto inhibitorio de un cóctel bacteriano aplicado como probiótico en un cultivo de larvas de camarón"** me corresponden exclusivamente y el patrimonio intelectual de la misma compartido con la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

**Atentamente,**

*Yuliana Bernabé*

---

**Yuliana Rubí Bernabé Briones**

**C.I. 0925913063**

## ÍNDICE

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUCCIÓN.....                                                               | 20 |
| 2. PROBLEMA .....                                                                  | 22 |
| 3. JUSTIFICACIÓN .....                                                             | 24 |
| 4. OBJETIVOS.....                                                                  | 26 |
| 4.1 Objetivo general .....                                                         | 26 |
| 4.2 Objetivos específicos .....                                                    | 26 |
| 5. HIPÓTESIS:.....                                                                 | 27 |
| 6. MARCO TEÓRICO .....                                                             | 28 |
| 6.1 Generalidades del camarón blanco del pacífico ( <i>Penaeus vannamei</i> )..... | 28 |
| 6.1.1 Clasificación taxonómica .....                                               | 28 |
| 6.2 Ciclo biológico larvario de <i>Penaeus vannamei</i> .....                      | 29 |
| 6.2.1 Nauplio .....                                                                | 29 |
| 6.2.2 Zoea .....                                                                   | 30 |
| 6.2.3 Mysis.....                                                                   | 31 |
| 6.2.4 Postlarva .....                                                              | 31 |
| 6.3 Cultivo de <i>Penaeus vannamei</i> en Ecuador. ....                            | 32 |
| 6.3.1 Importancia de la producción de camarón en Ecuador.....                      | 32 |
| 6.3.2 Laboratorios de producción de larvas de <i>Penaeus vannamei</i> .....        | 33 |
| 6.4 Ecología bacteriana en sistemas de producción larvaria .....                   | 34 |
| 6.4.1 Microbiota bacteriana en sistemas de producción .....                        | 34 |
| 6.4.2 Factores que modifican la microbiota de <i>Penaeus vannamei</i> .....        | 34 |
| 6.4.3 Bacterias oportunistas en cultivos larvarios.....                            | 35 |
| 6.5 Género <i>Vibrio</i> .....                                                     | 35 |
| 6.5.1 Patologías asociadas a especies del género <i>Vibrio</i> .....               | 36 |

|        |                                                                                       |    |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.6    | Medios de cultivo como herramienta para aislamiento e identificación bacteriana ..... | 38 |
| 6.6.1  | Agar TCBS.....                                                                        | 38 |
| 6.6.2  | Chromagar <i>Vibrio</i> .....                                                         | 38 |
| 6.6.3  | Agar TSA marino.....                                                                  | 39 |
| 6.6.4  | Agar Cetrimide .....                                                                  | 39 |
| 6.7    | Control de enfermedades bacterianas en la acuicultura .....                           | 39 |
| 6.7.1  | Uso de antibióticos en acuicultura.....                                               | 39 |
| 6.7.2  | Consecuencias del uso de antibióticos .....                                           | 40 |
| 6.7.3  | Necesidad de alternativas para el control .....                                       | 41 |
| 6.8    | Probióticos en la acuicultura .....                                                   | 41 |
| 6.8.1  | Características de un probiótico.....                                                 | 42 |
| 6.8.2  | Mecanismos de acción de los probióticos .....                                         | 42 |
| 6.9    | Consortios bacterianos como estrategia probiótica.....                                | 45 |
| 6.10   | Bacterias de interés en la investigación .....                                        | 45 |
| 6.10.1 | <i>Lactobacillus plantarum</i> .....                                                  | 46 |
| 6.10.2 | <i>Bacillus coagulans</i> .....                                                       | 46 |
| 6.10.3 | <i>Bacillus mojavensis</i> .....                                                      | 47 |
| 6.10.4 | <i>Rhodopseudomonas palustris</i> .....                                               | 47 |
| 7.     | METODOLOGÍA .....                                                                     | 49 |
| 7.1    | Sitio de estudio: .....                                                               | 49 |
| 7.2    | Enfoque y tipo de estudio: .....                                                      | 50 |
| 7.3    | Diseño experimental:.....                                                             | 50 |
| 7.4    | Siembra de nauplios.....                                                              | 51 |
| 7.5    | Tratamientos probióticos .....                                                        | 52 |
| 7.5.1  | Composición del consorcio bacteriano no comercial .....                               | 52 |

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 7.5.2 Composición de los consorcios comerciales .....                                                                             | 54 |
| 7.5.3 Dosificación y aplicación de los tratamientos .....                                                                         | 55 |
| 7.6.1 Prueba de antagonismo:.....                                                                                                 | 56 |
| 7.7 Evaluaciones microbiológicas.....                                                                                             | 57 |
| 7.7.1 Muestreos larvarios .....                                                                                                   | 57 |
| 7.7.2 Preparación de los medios de cultivo .....                                                                                  | 58 |
| 7.7.3 Procesamiento microbiológico de las muestras. ....                                                                          | 59 |
| 7.7.4 Estimación de unidades formadoras de colonias (UFC) .....                                                                   | 61 |
| 7.8 Evaluación del probiótico <i>in vivo</i> .....                                                                                | 61 |
| 7.8.1 Supervivencia.....                                                                                                          | 61 |
| 7.9 Análisis estadísticos.....                                                                                                    | 62 |
| 7.9.1 Prueba de Shapiro-Wilk .....                                                                                                | 62 |
| 7.9.2 Análisis de varianza (ANOVA) .....                                                                                          | 63 |
| 7.9.3 Kruskal-Wallis.....                                                                                                         | 63 |
| 7.9.4 Prueba exacta de Fisher .....                                                                                               | 63 |
| 7.9.5 Análisis de equivalencia TOST .....                                                                                         | 64 |
| 8. RESULTADOS .....                                                                                                               | 65 |
| 8.1 Evaluación <i>in vitro</i> del consorcio bacteriano probiótico .....                                                          | 65 |
| 8.2 Comparación microbiológica de la carga bacteriana entre tratamientos .....                                                    | 67 |
| 8.2.1 Colonias verdes.....                                                                                                        | 67 |
| 8.2.3 <i>Vibrio alginolyticus</i> .....                                                                                           | 75 |
| 8.2.4 Bacterias marinas .....                                                                                                     | 78 |
| 8.2.5 Otros patógenos ( <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. harveyi</i> , <i>V. vulnificus</i> ,<br><i>Pseudomonas sp</i> ). ..... | 81 |
| 8.3 Tasa de supervivencia en tanques control y tratamiento .....                                                                  | 84 |
| 8.4 Análisis de los resultados obtenidos .....                                                                                    | 87 |

|                             |            |
|-----------------------------|------------|
| <b>DISCUSIONES .....</b>    | <b>89</b>  |
| <b>CONCLUSIONES.....</b>    | <b>93</b>  |
| <b>RECOMENDACIONES.....</b> | <b>95</b>  |
| <b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>    | <b>96</b>  |
| <b>ANEXOS.....</b>          | <b>113</b> |

## ÍNDICE DE FIGURA

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> <i>Penaeus vannamei</i> .....                                                  | 28 |
| <b>Figura 2.</b> Estadio de Nauplio.....                                                       | 29 |
| <b>Figura 3.</b> Estadio de Zoea .....                                                         | 30 |
| <b>Figura 4.</b> Estadios de Mysis. ....                                                       | 31 |
| <b>Figura 5.</b> Postlarva de <i>Penaeus vannamei</i> . ....                                   | 32 |
| <b>Figura 6.</b> Localización del área de estudio, Megalatina.....                             | 49 |
| <b>Figura 7</b> Halos de inhibición formados a partir de la prueba de antagonismo.....         | 65 |
| <b>Figura 8</b> Tendencia de la carga (Log10) de colonias verdes por estadio. ....             | 68 |
| <b>Figura 9</b> Distribución de la carga (Log10) de colonias verdes por estadio.....           | 69 |
| <b>Figura 10</b> Frecuencia de aislamiento de colonias verdes por estadio .....                | 70 |
| <b>Figura 11</b> Tendencia de la carga (Log10) de colonias amarillas por estadio .....         | 72 |
| <b>Figura 12</b> Distribución de la carga (Log10) de colonias amarillas por estadio ...        | 73 |
| <b>Figura 13</b> Frecuencia de aislamiento de colonias amarillas por estadio .....             | 74 |
| <b>Figura 14</b> Tendencia de la carga (Log10) de <i>Vibrio alginolyticus</i> por estadio .... | 75 |
| <b>Figura 15</b> Distribución de la carga (Log10) de <i>V. alginolyticus</i> por estadio.....  | 76 |
| <b>Figura 16</b> Frecuencia de aislamiento de <i>V. alginolyticus</i> por estadio .....        | 77 |
| <b>Figura 17</b> Tendencia de la carga (Log10) de bacterias marinas por estadio .....          | 79 |
| <b>Figura 18</b> Distribución de la carga (Log10) de bacterias marinas por estadio ....        | 79 |
| <b>Figura 19</b> Frecuencia de aislamiento de Bacterias marinas por estadio .....              | 80 |
| <b>Figura 20</b> Prevalencia de patógenos de detección esporádica .....                        | 83 |
| <b>Figura 21</b> Detección por estadio de patógenos esporádicos .....                          | 84 |
| <b>Figura 22</b> Tasa de supervivencia por tratamiento .....                                   | 85 |
| <b>Figura 23</b> Prueba de equivalencia TOST: Tratamiento vs control .....                     | 86 |

## ÍNDICE DE TABLA

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1</b> Principales enfermedades causadas por especies patógenas de <i>Vibrios</i> ..           | 36 |
| <b>Tabla 2</b> Descripción de los tratamientos utilizados en el diseño experimental ....               | 51 |
| <b>Tabla 3.</b> Cantidad de organismos sembrados por ciclo de producción.....                          | 52 |
| <b>Tabla 4.</b> Características del probiótico no comercial utilizado en la investigación<br>.....     | 53 |
| <b>Tabla 5.</b> Características de los probióticos comerciales utilizados en la<br>investigación ..... | 54 |
| <b>Tabla 6.</b> Dosificación de probióticos del grupo Tratamiento (T1) .....                           | 55 |
| <b>Tabla 7.</b> Dosificación de probióticos del grupo control (T2) .....                               | 56 |
| <b>Tabla 8.</b> Frecuencia de muestreos por ciclo de producción.....                                   | 57 |
| <b>Tabla 9.</b> Halos de inhibición ( <i>mm</i> ) del consorcio probiótico .....                       | 66 |

## ÍNDICE DE ANEXOS

|                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Anexo 1.</b> Preparación y montaje de muestras larvarias para análisis en microscopio .....                                 | 113 |
| <b>Anexo 2.</b> Observación microscópica de muestra de tanque tratamiento .....                                                | 113 |
| <b>Anexo 3.</b> Pesaje del medio de cultivo TCBS para su posterior preparación .....                                           | 113 |
| <b>Anexo 4.</b> Agar preparado para someter a ebullición para su completa disolución.<br>.....                                 | 113 |
| <b>Anexo 5.</b> Proceso de solidificación del medio de cultivo en placas inoculadas<br>previo a su periodo de incubación.....  | 114 |
| <b>Anexo 6.</b> Crecimiento de colonias bacterianas tras 24 h de incubación para el<br>recuento bacteriano. ....               | 114 |
| <b>Anexo 7.</b> Visita de supervisión técnica y seguimiento del desarrollo experimental<br>por parte de tutora académica ..... | 115 |

## RESUMEN

Los estadios larvarios en los laboratorios de producción de *Penaeus vannamei* son los más sensibles a enfermedades bacterianas causadas principalmente por bacterias del género *Vibrio*. Debido a las crecientes restricciones regulatorias sobre el uso de antibióticos, se considera el uso de consorcios probióticos como una alternativa sostenible para mejorar la sanidad acuícola. El presente estudio evaluó el efecto de un consorcio probiótico no comercial proporcionado por la empresa Dapetsa S.A, en la reducción de la carga bacteriana patógena de un cultivo de *Penaeus vannamei*, mediante la determinación de su capacidad inhibitoria y su desempeño en un sistema de producción. La investigación se realizó bajo un enfoque cuantitativo experimental en el laboratorio Megalatina S.A. (Salinas, Ecuador), evaluando tres corridas consecutivas de producción. Se realizaron ensayos de antagonismo *in vitro* y análisis microbiológicos de la carga bacteriana, además de estimar la tasa de supervivencia final mediante análisis estadísticos como Kruskal-Wallis, ANOVA y la prueba de equivalencia TOST. Los resultados demostraron una sólida actividad antagónica, registrando los mayores halos de inhibición frente a *V. alginolyticus* (40 mm), *Pseudomonas* sp. (32 mm) y *V. parahaemolyticus* (30 mm). La aplicación del consorcio redujo la frecuencia de aislamiento de colonias verdes durante el ciclo productivo, registrándose una incidencia del 55.6 % en el tratamiento y de 66.7 % en el grupo control. Los análisis estadísticos evidenciaron equivalencia en la supervivencia de los grupos evaluados, donde se obtuvo: Tratamiento (64 %) y control (66 %). En conclusión, los resultados indican que la aplicación del consorcio probiótico no comercial, constituye una alternativa viable y segura para

la estabilidad de la microbiota de los cultivos, manteniendo un rendimiento productivo equivalente al obtenido con los probióticos comerciales.

**Palabras clave:** *Penaeus vannamei*, probiótico, carga bacteriana, *Vibrio*, antagonismo.

## ABSTRACT

The larval stages in *Penaeus vannamei* production laboratories are the most susceptible to bacterial diseases caused mainly by bacteria of the genus *Vibrio*. Due to increasing regulatory restrictions on the use of antibiotics, the use of probiotic consortia is being considered as a sustainable alternative for improving aquaculture health. This study evaluated the effect of a non-commercial probiotic consortium supplied by Dapetsa S.A on reducing the pathogenic bacterial load in a *Penaeus vannamei* culture, by determining its inhibitory capacity and its performance in a production system. The research was conducted using a quantitative experimental approach at the Megalatina S.A. laboratory (Salinas, Ecuador), evaluating three consecutive production runs. In vitro antagonism assays and microbiological analyses of the bacterial load were carried out, and the final survival rate was estimated using statistical analyses such as the Kruskal-Wallis test, ANOVA and the TOST equivalence test. The results demonstrated strong antagonistic activity, with the largest inhibition zones observed against *V. alginolyticus* (40 mm), *Pseudomonas* sp. (32 mm) and *V. parahaemolyticus* (30 mm). The application of the consortium reduced the frequency of green colony isolation during the production cycle, with an incidence of 55.6% in the treatment group and 66.7% in the control group. Statistical analyses showed equivalence in survival rates between the groups evaluated, with the following results: treatment group (64%) and control group (66%). In conclusion, the results indicate that the application of the non-commercial probiotic consortium constitutes a viable and safe alternative for

maintaining the stability of the microbiota in the cultures, whilst maintaining a yield equivalent to that obtained with commercial probiotics.

**Keywords:** *Penaeus vannamei*, probiotic, bacterial load, *Vibrio*, antagonism.

## 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la producción y exportación de camarón representa una de las principales actividades económicas del Ecuador. Esta industria ha permitido que el país se ubique entre los principales exportadores de camarón del mundo, siendo *Penaeus vannamei* la principal especie de cultivo, debido a su rápido crecimiento, alta supervivencia y capacidad de adaptación a diferentes condiciones de cultivo. En 2025, el camarón fue el principal producto exportado del país, alcanzando valores que superaron a otros productos tradicionales de exportación (Banco Central del Ecuador, 2025).

A pesar del éxito de esta industria, los estadios larvarios se consideran una etapa crítica dentro de todo el ciclo de producción, puesto que, en los laboratorios de cultivo, esta es la etapa más vulnerable debido a que los organismos son más susceptibles a las variaciones ambientales o enfermedades causadas por microorganismos patógenos como bacterias del género *Vibrio* (Bermúdez *et al.*, 2024).

Históricamente, el control de las enfermedades bacterianas se ha basado en el uso de antibióticos, sin embargo, la aplicación de estos ha sido prohibida, por lo que el sector camaronero se ha visto en la necesidad de encontrar estrategias biológicas

sostenibles que permitan mejorar la salud de los organismos cultivados, siendo la principal alternativa el uso de probióticos (Tamilselvan y Raja, 2024).

Los probióticos son microorganismos vivos cuya aplicación ha demostrado proporcionar beneficios al hospedador y al ambiente de cultivo, permitiendo que se establezca como una importante herramienta para el control de enfermedades, sin embargo, la eficacia de los tratamientos probióticos puede verse influenciada por las interacciones microbianas dentro del sistema de cultivo, por lo que el sector acuícola se encuentra constantemente en investigación de nuevas mezclas de tratamientos aplicables y efectivos para mejorar el control de patógenos (Bhassu *et al.*, 2024). En este contexto, se considera necesario validar la viabilidad de nuevas formulaciones probióticas.

El presente trabajo se enfoca en evaluar la aplicación de una mezcla de bacterias probióticas no comercial utilizada en un cultivo de larvas de camarón para determinar la actividad antagónica *in vitro* frente a patógenos de interés, así como su efecto en el sistema productivo y la supervivencia de los organismos a lo largo de su ciclo de desarrollo.

## 2. PROBLEMA

A pesar de la posición importante que tiene Ecuador en la exportación de *Penaeus vannamei*, la producción larvaria de esta especie representa una etapa fundamental en todo el proceso, ya que la calidad y supervivencia obtenidas durante esta fase determinan el éxito del proceso productivo. Sin embargo, esta se enfrenta a desafíos constantes y significativos, debido a la alta susceptibilidad del organismo a factores ambientales adversos y enfermedades causadas por bacterias patógenas, especialmente del género *Vibrio*, que ha sido asociado con la reducción de supervivencia y pérdidas económicas de los laboratorios de producción (Reyes *et al.*, 2022).

En la actualidad, las normativas en la acuicultura regulan estrictamente el uso de antibióticos, debido a los efectos negativos que puede causar en los organismos, favoreciendo la aparición de cepas bacterianas resistentes y alteraciones en las comunidades microbianas, llegando a complicar el manejo de enfermedades y representando riesgos para la salud ambiental y humana (Devadas *et al.*, 2024).

Diversos estudios han demostrado que las bacterias probióticas presentan una capacidad antagónica frente a especies patógenas, contribuyendo al control de enfermedades, al incremento de la supervivencia y al mejoramiento de la producción. Sin embargo, a pesar de esta alternativa creciente en la industria, la

eficacia de estos tratamientos probióticos no es uniforme. Esta eficacia depende de diversos factores como la combinación de las cepas utilizadas, la concentración de estas, la dosis aplicada, la interacción con la microbiota del ambiente y las condiciones ambientales (Elsegeny *et al.*, 2025)

Como consecuencia de estos factores, los resultados de las formulaciones probióticas pueden variar a través del tiempo y en los diferentes sistemas de producción, evidenciando la necesidad constante de seleccionar y emplear nuevos conjuntos de cepas probióticas que demuestren la capacidad para el control de bacterias patógenas y establecer las dosis de aplicación más efectivas (Raza *et al.*, 2024).

Debido al creciente interés en el uso de probióticos en la acuicultura, continúan desarrollándose nuevas alternativas de consorcios bacterianos, por lo que es necesario validar su capacidad inhibitoria y determinar las dosis más efectivas para el control de bacterias patógenas. En este sentido, este estudio busca evaluar la eficacia de un cóctel bacteriano no comercial, aportando evidencia científica para validar su potencial como alternativa probiótica para el manejo de los sistemas de cultivo.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Actualmente, la frecuencia y diversas formas en que surgen las enfermedades dentro de un cultivo, impulsan la búsqueda constante de alternativas para mejorar los procesos de producción. La posibilidad de enriquecer la flora bacteriana de las larvas de camarón y la microbiota acuática de los sistemas de cultivo de los laboratorios, a través de la inoculación de bacterias probióticas, es factible y beneficioso a largo plazo para mantener la estabilidad de una producción.

Sin embargo, la efectividad de los tratamientos probióticos depende en gran medida de la elección de cepas a utilizar y principalmente, de las dosis adecuadas para su aplicación. La variabilidad en la eficacia de los probióticos reportada en diferentes estudios, destaca la necesidad de continuar realizando investigaciones que determinen mezclas efectivas para ser aplicadas en producción y establecer dosis óptimas para la inhibición de agentes patógenos, ofreciendo alternativas de acción que permitan maximizar los beneficios asociados al uso de consorcios probióticos en los laboratorios de producción.

Diversas investigaciones se han enfocado en identificar cepas con propiedades inhibitorias, que hayan demostrado un gran potencial en la reducción de agentes

patógenos de interés, impidiendo su proliferación y estimulando el desarrollo del sistema inmune del camarón.

Además de estas razones, el presente trabajo se encuentra justificado en la necesidad de evaluar la eficacia de un consorcio bacteriano probiótico como estrategia de control patógeno y generar información científica acerca de la eficiencia de esta nueva alternativa. A pesar de los diversos productos existentes en el mercado y considerando la importancia de la producción de *Penaeus vannamei* para la industria camaronera ecuatoriana, la búsqueda, evaluación y generación de nuevas fórmulas probióticas, continúa siendo relevante ante las diversas variaciones de cultivo, condiciones ambientales e intensidad productiva, resultando indispensable la evaluación de estos consorcios bajo condiciones reales de cultivo.

Los resultados permitirán determinar si la aplicación de este consorcio probiótico no comercial contribuye a mejorar características relevantes como la reducción de la carga bacteriana patógena y la supervivencia, aportando información útil para la implementación de estrategias que contribuyan a una producción larvaria más eficiente y sostenible.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general**

Determinar el efecto del cóctel bacteriano aplicado como probiótico sobre la reducción de carga bacteriana patógena y la supervivencia larvaria de *Penaeus vannamei*.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Comprobar el efecto inhibitorio del cóctel bacteriano frente a bacterias patógenas mediante pruebas de antagonismo (*in vitro*)
- Comparar la carga bacteriana patógena presente en los organismos de los grupos control y tratamiento, tras la aplicación del cóctel probiótico.
- Estimar la tasa de supervivencia de las larvas de camarón en los tanques del grupo tratamiento, en comparación con los del grupo control.

## **5. HIPÓTESIS:**

La aplicación del consorcio bacteriano probiótico no produce diferencias significativas en la carga bacteriana patógena, ni en la supervivencia larvaria de *Penaeus vannamei* en comparación con las larvas que no reciben el tratamiento.

## 6. MARCO TEÓRICO

### 6.1 Generalidades del camarón blanco del pacífico (*Penaeus vannamei*)

#### 6.1.1 Clasificación taxonómica

**Reino:** Animalia.

**Filo:** Arthropoda.

**Subfilo:** Crustacea.

**Clase:** Malacostraca.

**Orden:** Decapoda

**Suborden:** Dendrobranchiata

**Familia:** *Penaeidae*

**Género:** *Penaeus*

**Especie:** *vannamei* (Ma et al., 2009) (**Figura 1**)



**Figura 1** *Penaeus vannamei*

## 6.2 Ciclo biológico larvario de *Penaeus vannamei*

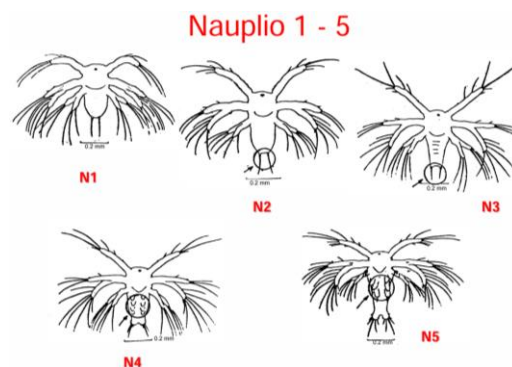
### 6.2.1 Nauplio

Esta etapa es el primer estado larvario de *Penaeus vannamei* y comienza inmediatamente después de la eclosión de los huevos y comprende cinco subestadios consecutivos (NI, NII, NIII, NIV, NV) (**Figura 2**).

Durante este periodo, los nauplios se alimentan principalmente de sus reservas vitelinas, por lo que aún no poseen un sistema digestivo funcional. Morfológicamente presentan un cuerpo piriforme y un ocelo simple en la región anterior que es el extremo más grande, a medida que avanzan los subestadios, el organismo va alargando su cuerpo y presentando diferenciaciones en la antena, anténula y en la furca caudal con el agregado de espinas (Fenucci, 1988).

### Figura 2.

*Estadio de Nauplio*



*Nota:* En la imagen se observa la diferenciación entre los subestadios de Nauplio I, Nauplio II, Nauplio III, Nauplio IV y Nauplio V. Fuente: (Marcillo, 2010).

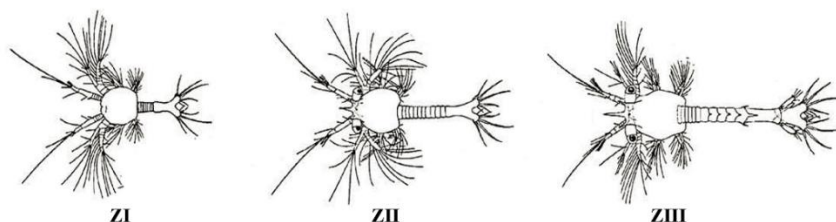
### 6.2.2 Zoea

Este estadio se encuentra dividido en tres subestadios larvales: Zoea I, Zoea II, Zoea III (**Figura 3**). Durante esta etapa se desarrolla el aparato digestivo por lo que las larvas comienzan a alimentarse de manera exógena, basando su consumo principal en microalgas como fuente de nutrientes (Pedrazzani *et al.*, 2023).

En esta etapa comienza a notarse cambios morfológicos donde se empieza a desarrollar el caparazón, el rostro y los ojos pedunculados y comienza la formación progresiva de los apéndices torácicos y abdominales. A medida que avanzan los subestadios, el organismo presenta un alargamiento en su longitud corporal. Así mismo, las larvas presentan un nado continuo hacia adelante que es principalmente impulsado por el movimiento de las antenas y apéndices locomotores (Goytortúa *et al.*, 2023).

#### Figura 3.

*Estadio de Zoea*



*Nota:* En la imagen se observa la diferenciación entre los subestadios Zoea I, Zoea II y Zoea III. Fuente: (Wei *et al.*, 2014).

### 6.2.3 Mysis

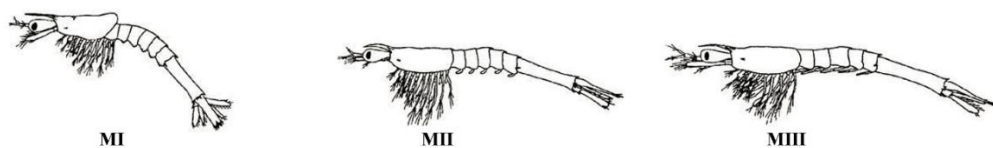
Esta etapa larval presenta tres subestadios: Mysis I, Mysis II, Mysis III (**Figura 4**).

En esta etapa el organismo presenta un cuerpo alargado y se mantiene ligeramente encorvado en la zona del abdomen. En esta fase, las larvas se alimentan de rotíferos, artemia o alimento artificial (Pedrazzani *et al.*, 2023).

Los pereiópodos se presentan con un mayor grado de desarrollo y comienzan a participar en la locomoción larval, el patrón de nado cambia, caracterizándose por el desplazamiento en dirección opuesta (Goytortúa *et al.*, 2023).

**Figura 4.**

*Estadios de Mysis.*



*Nota:* En la imagen se observa la diferenciación entre los subestadios Mysis I, Mysis II, Mysis III. Fuente: (Wei *et al.*, 2014).

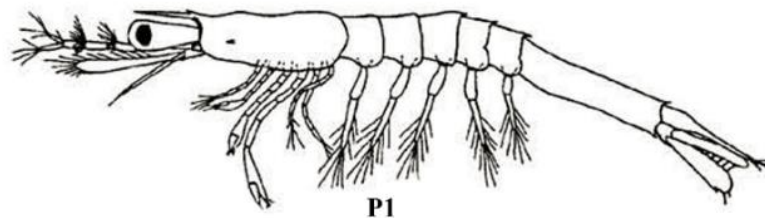
### 6.2.4 Postlarva

Durante este periodo, el organismo adquiere características morfológicas similares a las de un camarón juvenil, presentando el abdomen, el cefalotórax y los apéndices locomotores bien desarrollados. En este estadio, los pleópodos presentan setas, lo

que permite una natación más eficiente. El rostro se caracteriza por ser corto, de base amplia y un extremo anterior puntiagudo. En tallas aproximadas de 5 mm de longitud, el rostro presenta de 3 a 4 dientes en la parte dorsal, en tallas de 10 mm no posee más de dos dientes en la parte ventral. Su alimentación se basa principalmente en alimento balanceado y artemia (Carvajal *et al.*, 2013) (**Figura 5**).

**Figura 5.**

*Postlarva de Penaeus vannamei.*



*Nota:* En la imagen se observa un ejemplar con las características anatómicas de una postlarva, cuerpo alargado y segmentado, rostro corto y pereopodos desarrollados. Fuente: (Wei *et al.*, 2014).

### **6.3 Cultivo de *Penaeus vannamei* en Ecuador.**

#### **6.3.1 Importancia de la producción de camarón en Ecuador.**

La camaronicultura representa una de las actividades de producción más importantes del Ecuador, debido a su importante aporte económico, su participación dentro del comercio internacional y su importancia en generación de empleo en el país. Esta actividad se desarrolla principalmente en zonas costeras, gracias a que las

condiciones ambientales favorecen el cultivo del camarón blanco del pacífico (*Penaeus vannamei*). Durante los últimos años, Ecuador se ha posicionado como uno de los principales productores y exportadores mundiales de camarón, generando importantes ingresos económicos. En 2025, el camarón fue el principal producto exportado, registrando un 20,2% más de crecimiento en valor de dólares en relación al año 2024 (Banco Central del Ecuador, 2025).

### **6.3.2 Laboratorios de producción de larvas de *Penaeus vannamei***

La producción de larvas de *Penaeus vannamei* constituye una parte importante de la cadena productiva de la camaronicultura en el país, ya que los laboratorios de larvicultura abastecen a las camaroneras con postlarvas para la fase de engorde. En estos sistemas, el manejo adecuado de las condiciones del cultivo es esencial para obtener organismos con buen desempeño productivo (Espinosa, 2016).

Sin embargo, durante el desarrollo larvario, los organismos atraviesan etapas críticas debido a su alta sensibilidad a los diferentes factores físico-químicos y carga microbiana (Su-Kyoung *et al.*, 2022). Por esta razón, se procura mantener el equilibrio entre estos factores para garantizar el crecimiento y la supervivencia de los organismos.

Con el constante crecimiento de las producciones en la industria, también se ha incrementado la necesidad de implementar nuevas estrategias de manejo para optimizar la producción y reducir riesgos de pérdida (Khanjani, 2024).

## **6.4 Ecología bacteriana en sistemas de producción larvaria**

### **6.4.1 Microbiota bacteriana en sistemas de producción**

Los sistemas de cultivo larvario de *Penaeus vannamei* presentan comunidades bacterianas que se encuentran asociadas al agua, alimento e incluso al mismo organismo. La composición de estas comunidades, que conforman la microbiota del cultivo, es dinámica y puede modificarse a medida que avanzan las diferentes etapas del desarrollo larvario (Huang *et al.*, 2016). En este sentido, el mantenimiento de una microbiota equilibrada tiene efectos positivos en el crecimiento, la salud y la supervivencia de los organismos (Raza *et al.*, 2024).

### **6.4.2 Factores que modifican la microbiota de *Penaeus vannamei***

Existen varios factores endógenos y exógenos que influyen en la composición de la microbiota de *Penaeus vannamei*. Entre los factores exógenos se encuentran: la composición de la dieta, debido al aporte de nutrientes que proviene del alimento no consumido, y la acumulación de materia orgánica, que favorece el desarrollo y la proliferación de bacterias. Asimismo, los factores físicoquímicos del agua también influyen en la dinámica de la microbiota. Por otro lado, los factores

endógenos incluyen el estadio de desarrollo y el estado de salud, ya que alteraciones biológicas como estas pueden modificar el equilibrio de las comunidades microbianas (Cruz, 2019).

#### **6.4.3 Bacterias oportunistas en cultivos larvarios**

Las bacterias oportunistas son microorganismos que generalmente habitan en el ambiente o forman parte del hospedador sin causar enfermedad, sin embargo, cuando se producen alteraciones en el equilibrio del sistema o del organismo, tienen la capacidad de proliferar y provocar enfermedades (Samsing y Barnes, 2024).

En cultivos de *Penaeus vannamei*, las bacterias oportunistas de más importancia son especies pertenecientes al género *Vibrio*, cuya proliferación está asociada a condiciones de estrés y desequilibrios ambientales, que a su vez incrementa el riesgo de enfermedades y mortalidad (Xiong *et al.*, 2024).

#### **6.5 Género *Vibrio***

Las bacterias del género *Vibrio* son microorganismos Gram negativos con forma curvada, anaerobias facultativas y móviles gracias a la presencia de flagelos, estas son bacterias que habitan ambientes marinos y de agua dulce, y se encuentran como microbiota normal de muchos ambientes acuáticos (Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria, 2025).

Las bacterias de este género causan una enfermedad bacteriana conocida como *vibriosis*, que ha sido la causa de altas mortalidades en cultivos de camarón, afectando tanto a laboratorios de producción larvaria como a piscinas de engorde. Los estadios de larva y postlarva son los más susceptibles a contraer infecciones por especies patógenas de *Vibrio* (Cuéllar, 2013).

### 6.5.1 Patologías asociadas a especies del género *Vibrio*

Las especies patógenas del género *Vibrio* se encuentran asociadas a diversas enfermedades que afectan los cultivos de *Penaeus vannamei* en laboratorios de producción, causando tasas de mortalidad durante el desarrollo larvario de la especie. En la **Tabla 1** se presentan las principales enfermedades causadas por especies de este género.

**Tabla 1**

*Principales enfermedades causadas por especies patógenas de Vibrios.*

| Enfermedad                                            | Agente causal                  | Signos clínicos                                                                | Referencia                   |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| <b>Necrosis hepatopancreática aguda (AHPND o EMS)</b> | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | Hepatopáncreas pálido y atrofiado, intestino vacío, letargo, falta de apetito. | (Tran <i>et al.</i> , 2013). |

|                                          |                                                        |                                                                                                                                      |                                   |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| <b>Síndrome del rojo brillante (BRS)</b> | <i>Vibrio harveyi</i>                                  | Letargo, cuerpo flácido, manchas multifocales en la cutícula abdominal, erosiones melanizadas alrededor de las manchas.              | (Rodríguez <i>et al.</i> , 2010). |
| <b>Síndrome de Zoea</b>                  | <i>Vibrio alginolyticus</i> ,<br><i>Vibrio harveyi</i> | Letargo y nado errático, falta de apetito, rápida evacuación del contenido intestinal, mortalidad elevada.                           | (Kumar <i>et al.</i> , 2017)      |
| <b>Síndrome larval de Bolitas (LBS)</b>  | <i>Vibrio sp.</i>                                      | Descamación de las células del hepatopáncreas e intestino, lo que provoca la presencia de bolitas blancas como signo característico. | (Intriago <i>et al.</i> , 2024)   |
| <b>Enfermedad de luminiscencia</b>       | <i>Vibrio harveyi</i>                                  | Bioluminiscencia en larvas, letargo, nado errático, permanencia en el fondo y mortalidades.                                          | (Cuéllar <i>et al.</i> , 2014)    |

*Nota:* Enfermedades causadas por especies de *Vibrio* patógenas y sus signos clínicos en *P. vannamei*.

## **6.6 Medios de cultivo como herramienta para aislamiento e identificación bacteriana**

### **6.6.1 Agar TCBS**

El agar Tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa (TCBS) es uno de los medios selectivos más utilizados para el aislamiento de bacterias del género *Vibrio*. Este medio de cultivo contiene sacarosa y un indicador de pH, los *Vibrios* que no fermentan la sacarosa forman colonias verdes en este medio de cultivo, mientras que los *Vibrios* que sí fermentan la sacarosa forman colonias amarillas. (Nigro y Steward, 2015).

### **6.6.2 Chromagar *Vibrio***

El agar cromogénico para *Vibrio* es un medio de cultivo selectivo y diferencial que permite el aislamiento y la identificación presuntiva de especies del género *Vibrio*. Este medio incorpora sustratos cromogénicos, la forma en que permite distinguir de forma presuntiva entre especies es porque discrimina entre cepas, basándose en las diferencias de su capacidad para metabolizar sustratos cromogénicos, permitiendo diferenciar las colonias mediante el desarrollo de colores característicos (Fasulkova y Stratev, 2024).

### **6.6.3 Agar TSA marino**

El agar Soya Trypticaseína (TSA) es un medio de cultivo general y no selectivo, se emplea en microbiología para aislar bacterias heterótrofas. Se caracteriza por tener una base nutritiva que puede ser suplementada con sales marinas. Con dos peptonas como fuentes ricas en nitrógeno (peptona de caseína y peptona de soya), este agar permite el crecimiento de una amplia variedad de bacterias marinas incluyendo microorganismos beneficiosos y oportunistas (Thermo Fisher Scientific, 2018).

### **6.6.4 Agar Cetrimide**

El agar cetrimide se utiliza como un medio de cultivo de aislamiento presuntivo para bacterias del género *Pseudomonas*, su selectividad se debe a un compuesto de amonio cuaternario conocido como bromuro de cetiltrimetilamonio, que inhibe el crecimiento de bacterias gram positivas y numerosas gram negativas, favoreciendo el desarrollo de bacterias pertenecientes a este género. Además, induce la producción de pigmentos fluorescentes como la pioverdina y la piocianina facilitando la identificación presuntiva de las colonias (Henriquez *et al.*, 2024).

## **6.7 Control de enfermedades bacterianas en la acuicultura**

### **6.7.1 Uso de antibióticos en acuicultura**

Los antibióticos son sustancias antimicrobianas utilizadas para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas, mediante la interferencia de procesos

esenciales para su supervivencia, por ejemplo: la síntesis de la pared celular, la producción de proteínas o replicación del material genético (Borehalli *et al.*, 2022).

En la acuicultura, estos antibióticos se han utilizado para controlar enfermedades causadas por bacterias patógenas que afectan a los organismos cultivados, entre estos, *Penaeus vannamei* (Reantaso *et al.*, 2023).

#### **6.7.2 Consecuencias del uso de antibióticos**

A pesar de los beneficios, el uso excesivo o inadecuado de antibióticos genera consecuencias que afectan tanto al sistema de cultivo como al ambiente y la salud humana. Entre las principales se encuentran la selección de bacterias resistentes, reducción de la eficacia en los tratamientos, presencia de residuos en el agua, sedimentos y organismos de cultivo y efectos adversos asociados en la salud humana (Reantaso *et al.*, 2023).

En Ecuador, el uso de antibióticos en acuicultura se encuentra sujeto a regulaciones por la normativa nacional, la cual establece medidas que buscan garantizar la inocuidad de los productos destinados al consumo humano y minimizar los impactos ambientales ocasionados por su aplicación (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2019).

### **6.7.3 Necesidad de alternativas para el control**

El crecimiento de la industria camaronera ha incrementado la necesidad de implementar estrategias sanitarias que le permitan controlar las enfermedades bacterianas de una manera sostenible, buscando mantener el equilibrio del ecosistema y a su vez la inocuidad de los productos destinados al consumo (Pereira *et al.*, 2022).

En este contexto han surgido diversas alternativas biológicas orientadas a prevenir enfermedades y mantener el equilibrio microbiano. Entre estas estrategias destaca el uso de probióticos gracias a que favorecen un sistema sanitario sostenible y contribuyen a los organismos cultivados, ayudando a preservar la inocuidad de los productos (Hancz, 2022).

## **6.8 Probióticos en la acuicultura**

Los probióticos son microorganismos vivos que, al administrarse en cantidades adecuadas, proveen beneficios de salud al huésped (FAO y OMS, 2002). En el ámbito acuicultor el uso de estos se ha incrementado como una alternativa sostenible frente al uso de antibióticos debido a contribuciones como la mejora intestinal crecimiento y resistencia a enfermedades causadas por patógenos (Amiin *et al.*, 2023)

Además, se destaca el uso de probióticos en el aumento de la eficiencia productiva calificándolo como una herramienta clave en la acuicultura moderna (Atienza, 2022). Estas propiedades han impulsado el uso constante de probióticos en sistemas de cultivo, donde el equilibrio microbiológico es clave para mantener la estabilidad de una producción.

#### **6.8.1 Características de un probiótico**

Para que un probiótico pueda ser considerado como tal, debe presentar características específicas que garanticen su eficacia y seguridad dentro de un sistema de cultivo, entre las principales características se incluyen:

- No dañar al huésped.
- Ser aceptado por el huésped a través de la ingestión.
- Colonización y posterior reproducción dentro del mismo.
- Capacidad de llegar a los órganos meta donde deben ejercer sus beneficios
- No ofrecer resistencia a los virus o genes de resistencia antibacteriana (Pérez *et al.*, 2020).

#### **6.8.2 Mecanismos de acción de los probióticos**

Los probióticos ejercen sus efectos beneficiosos a través de distintos mecanismos de acción que, en conjunto, contribuyen a mejorar la salud y el desempeño productivo de los organismos cultivados (Hui-Goh *et al.*, 2022).

Estos mecanismos permiten la interacción de los microorganismos probióticos con el ambiente de cultivo y el hospedador, influyendo de manera positiva en aspectos como la estabilidad del sistema microbiano en el intestino, el aprovechamiento de nutrientes y la resistencia a enfermedades bacterianas (Mathan *et al.*, 2024).

#### **6.8.2.1 Colonización y sitios de adhesión.**

La capacidad de los probióticos para adherirse a la mucosa intestinal favorece su persistencia en el intestino, permitiéndole competir de forma efectiva con los patógenos por nutrientes y espacio, facilitando las interacciones beneficiosas con el hospedador. La formación de biopelículas favorece la exclusión competitiva de microorganismos nocivos, en consecuencia, se obtiene beneficios tales como mejor salud intestinal y absorción de nutrientes (Elsegeny *et al.*, 2025)

#### **6.8.2.2 Producción de sustancias antimicrobianas**

Los probióticos secretan diferentes sustancias antimicrobianas como bacteriocinas, peróxido de hidrógeno, bacitracina y sideróforos que reducen la actividad y el crecimiento de bacterias patógenas (Kalla *et al.*, 2026). De esta manera, contribuye mejorando la respuesta inhibitoria del organismo y favoreciendo la salud de los organismos cultivados (Noman, 2024).

### **6.8.2.3 Producción de compuestos beneficiosos**

Los probióticos producen diversos compuestos bioactivos que favorecen el crecimiento de la salud del hospedador, entre ellos: enzimas digestivas, vitaminas, aminoácidos y metabolitos, mejorando la digestibilidad y el aprovechamiento de los nutrientes (Ringø *et al.*, 2022).

Además, algunos microorganismos probióticos sintetizan compuestos con actividad antioxidante y moléculas que contribuyen al equilibrio de la microbiota intestinal promoviendo un mejor desempeño productivo (Calcagnile *et al.*, 2024).

### **6.8.2.4 Estimulación del sistema inmune**

Los probióticos estimulan el sistema inmunitario del camarón al modular la respuesta inmune innata, debido a que carecen de la capacidad para la producción de anticuerpos. Los probióticos incrementan el número de hemocitos y la actividad fagocítica, mejorando la producción de lisozimas, la activación del sistema profenoloxidasa (proPO) y la expresión de genes relacionados con la defensa, aumentando la capacidad del organismo para responder frente a bacterias patógenas y mejorando su resistencia a enfermedades (Hui-Goh *et al.*, 2022).

## **6.9 Consorcios bacterianos como estrategia probiótica**

Los consorcios bacterianos son combinaciones de dos o más microorganismos que se seleccionan para actuar de forma conjunta. En la naturaleza, los microorganismos no suelen desarrollarse de forma independiente, sino que forman alianzas en las que interactúan entre especies para impulsar funciones ecológicas de forma colaborativa (Yuan *et al.*, 2026).

Inicialmente, se evaluaba el efecto de cepas individuales para aplicar en acuicultura, en la actualidad, sin embargo, gracias a la combinación de los microorganismos, los probióticos de cepas múltiples ejercen un efecto más amplio que los probióticos que están formulados con una sola cepa, esto se debe a la sinergia entre cepas, brindando beneficios como la inhibición de varios patógenos, mayor diversidad funcional, mayor estabilidad microbiana y capacidad de adaptación al sistema de cultivo (Puvanasundram *et al.*, 2021)

## **6.10 Bacterias de interés en la investigación**

El consorcio probiótico utilizado en el presente estudio fue proporcionado por la empresa Dapetsa S.A. La formulación se compone de cuatro especies bacterianas seleccionadas por el fabricante. A continuación, se describe cada una:

#### **6.10.1 *Lactobacillus plantarum***

Es una bacteria gram positiva con forma de bacilo, no formadora de esporas, perteneciente al grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL). Presenta una elevada tolerancia a diferentes condiciones ambientales y puede modular la composición de la microbiota intestinal, mejorar la función de la barrera intestinal, mitigar respuestas inflamatorias y combatir el estrés oxidativo (Zhang *et al.*, 2025).

Esta bacteria compete con microorganismos patógenos por nutrientes y sitios de adhesión en el tracto digestivo y produce compuestos antimicrobianos como ácido láctico bacteriocinas y otros metabolitos orgánicos que inhiben el crecimiento particularmente de especies del género *Vibrio* (Macías *et al.*, 2023).

#### **6.10.2 *Bacillus coagulans***

Es una bacteria gram positiva, no patógena, formadora de endosporas, anaerobia facultativa y con forma de bacilo, sus células son cilíndricas, con extremos romos. Presenta una mayor resistencia al estrés y se ha observado que sobrevive a temperaturas extremas, acidez estomacal y sales biliares e inhibe los enteropatógenos (Bang *et al.*, 2021).

*Bacillus coagulans* se caracteriza por su capacidad fermentativa, combina propiedades de *Bacillus* y de bacterias ácido lácticas, característica que favorece su

potencial para modificar las condiciones del ambiente microbiano e inhibir microorganismos competidores, Además, esta bacteria influye de forma positiva en la morfología intestinal y la microflora de *Penaeus vannamei* y promueve la respuesta antioxidante e inmunitaria del organismo (Amoah *et al.*, 2019).

#### **6.10.3 *Bacillus mojavensis***

Es una bacteria gram positiva con forma de bacilo que prospera a temperaturas moderadas, se encuentra clasificada como mesófila y heterótrofa, presenta un comportamiento anaeróbico facultativo. Posee una capa gruesa de peptidoglicano en su pared celular, lo que le permite ser resistente a condiciones ambientales adversas. Produce una variedad de compuestos bioactivos, incluyendo sustancias antimicrobianas que pueden inhibir el crecimiento de patógenos y promover interacciones beneficiosas (MiMeDB, 2022).

Algunas cepas de *Bacillus mojavensis* han demostrado actividad antimicrobiana extracelular frente a bacterias patógenas de importancia en la acuicultura (Liu *et al.*, 2015).

#### **6.10.4 *Rhodopseudomonas palustris***

Es una bacteria púrpura no sulfurosa, se caracteriza por su versatilidad metabólica, diversidad de fuentes de carbono y variedad de metabolitos que le permite

desarrollarse en diferentes condiciones ambientales y participar en procesos de transformación de nutrientes y degradación de materia orgánica gracias a sus propiedades de biodetoxificación y biodegradación. Gracias a estas propiedades se la ha incorporado en consorcios microbianos utilizados en el sector acuicultor (Li *et al.*, 2022).

Estudios realizados en cultivos de *Penaeus vannamei*, se ha incorporado a *Rhodopseudomonas palustris* en un consorcio bacteriano que mostró un efecto favorable sobre la calidad del agua y en el mantenimiento del pH, reduciendo las concentraciones de nitratos y mejorando los parámetros productivos (Melgar *et al.*, 2013).

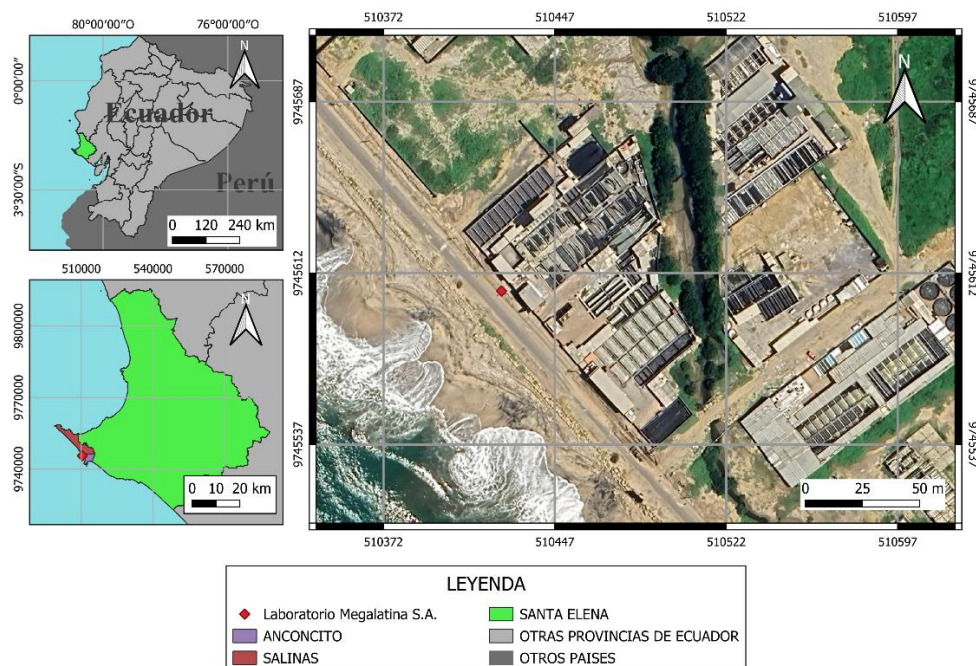
## 7. METODOLOGÍA

### 7.1 Sitio de estudio:

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de producción de larvas de camarón Megalatina S.A, específicamente en los módulos: Megalatina e Inarola, que se encuentra ubicado en la zona de Punta Carnero, Salinas - Ecuador, con las siguientes coordenadas geográficas: 2°18'05.7"S 80°54'22.5"W (**Figura 6**).

**Figura 6.**

*Localización del área de estudio, Megalatina.*



*Nota:* Ubicación geográfica del laboratorio de producción Megalatina S.A.

## 7.2 Enfoque y tipo de estudio:

La presente investigación fue desarrollada bajo un enfoque cuantitativo, dado que se recopilaban datos numéricos obtenidos a partir de evaluaciones microbiológicas y productivas. El estudio fue de tipo experimental y descriptivo, ya que tuvo como propósito evaluar el efecto de la aplicación de un consorcio bacteriano probiótico sobre la carga microbiana de larvas de *Penaeus vannamei* bajo las mismas condiciones de cultivo.

## 7.3 Diseño experimental:

Este estudio se llevó a cabo durante tres corridas consecutivas de producción larvaria de *Penaeus vannamei* durante los meses de marzo, abril y mayo del presente año. Cada corrida tuvo una duración aproximada de 16 días de producción y se utilizó un total de seis tanques de cultivo distribuidos en dos grupos experimentales. En la **Tabla 2** se describen los tratamientos aplicados. El grupo control estuvo conformado por tres tanques manejados bajo la metodología tradicional del laboratorio, que consiste en el uso de tres diferentes probióticos comerciales para el tracto y un probiótico líquido de uso interno y propio del laboratorio. Por su parte, el grupo tratamiento, integrado por los tres tanques restantes, en los que únicamente se aplicó el consorcio bacteriano no comercial

como probiótico para el tracto acompañado del probiótico bacteriano líquido de uso interno del laboratorio durante todos los días de producción.

**Tabla 2**

*Descripción de los tratamientos utilizados en el diseño experimental*

| <b>Código</b> | <b>Tipo de tratamiento</b> | <b>Tipo de manejo</b>                  | <b>Descripción</b>                                                                                                          |
|---------------|----------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T1            | Tratamiento                | Aplicación del probiótico no comercial | Manejo experimental: Inoculación del consorcio bacteriano no comercial acompañado del probiótico de uso interno para tracto |
| T2            | Control                    | Metodología tradicional de laboratorio | Manejo convencional: Uso de tres probióticos comerciales y uno de elaboración interna para tracto.                          |

*Nota:* Detalles de la aplicación metodológica llevada a cabo durante los ciclos de producción, diferenciación entre protocolos de cada grupo.

#### **7.4 Siembra de nauplios**

Los nauplios en el subestadio *nauplio 5* fueron adquiridos de la maduración TEXCUMAR. Previo a la siembra, los tanques fueron preparados y acondicionados con el protocolo de producción establecido por el laboratorio, iniciando con un total de 12 toneladas de agua por tanque. La cantidad de nauplios sembrados fue la

misma en todos los tanques de un mismo ciclo de producción, sin embargo, el número total de organismos sembrados varió entre ciclos (**Tabla 3**).

**Tabla 3.**

*Cantidad de organismos sembrados por ciclo de producción.*

| <b>Ciclo de producción</b> | <b>Tanques totales sembrados</b>      | <b>Estadio de siembra</b> | <b>Población sembrada (real)</b> | <b>Densidad de siembra</b> | <b>Volumen del tanque</b> |
|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| <b>1</b>                   | 6 tanques (3 control / 3 tratamiento) | N5                        | 2,432,000                        | 202 Naup/L                 | 12,000 L                  |
| <b>2</b>                   | 6 tanques (3 control / 3 tratamiento) | N5                        | 2,634,000                        | 220 Naup/L                 | 12,000 L                  |
| <b>3</b>                   | 6 tanques (3 control / 3 tratamiento) | N5                        | 2,736,000                        | 228 Nau/L                  | 12,000 L                  |

*Nota:* Los valores de la población sembrada (real) corresponden al número de organismos sembrados por cada tanque utilizado en la investigación.

## **7.5 Tratamientos probióticos**

### **7.5.1 Composición del consorcio bacteriano no comercial**

Para el desarrollo de la presente investigación, en el grupo tratamiento, se utilizó un consorcio bacteriano probiótico no comercial formulado por la empresa Dapetsa S.A, para uso acuícola. Los microorganismos se encuentran en una presentación en

forma de polvo fino, microencapsulados. El consorcio se encuentra compuesto por cuatro especies bacterianas benéficas: *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus mojavensis* y *Rhodopseudomona palustris*. Estas características se describen en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.**

*Características del probiótico no comercial utilizado en la investigación*

| <b>Consortio bacteriano probiótico no comercial</b> |                                                   |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>Presentación</b>                                 | Polvo fino, soluble, de color blanco-beige.       |
| <b>Cepas bacterianas</b>                            | <i>Lactobacillus plantarum</i>                    |
|                                                     | <i>Bacillus coagulans</i>                         |
|                                                     | <i>Bacillus mojavensis</i>                        |
|                                                     | <i>Rhodopseudomona palustris</i> .                |
| <b>Concentración</b>                                | 2,2 x 10 <sup>13</sup> UFC/g (22 billones UFC/g). |
| <b>mínima</b>                                       |                                                   |

*Nota:* Los datos corresponden a las especificaciones microbiológicas proporcionadas por la empresa fabricante.

### 7.5.2 Composición de los consorcios comerciales

En el grupo control, se utilizaron tres probióticos comerciales de uso estándar, empleados bajo la metodología tradicional del laboratorio. En la **Tabla 5** se detallan las características y especificaciones extraídas de sus respectivas etiquetas.

**Tabla 5.**

*Características de los probióticos comerciales utilizados en la investigación*

| <b>Producto comercial</b> | <b>Presentación</b> | <b>Composición</b>                                                                                                         | <b>Concentración garantizada</b> |
|---------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| <b>PC 1</b>               | Polvo fino, soluble | <i>Bacillus subtilis</i><br><i>Pediococcus acidilactici</i><br><i>Enterococcus faecium</i><br><i>Lactobacillus reuteri</i> | $3.0 \times 10^{12}$ UFC/kg      |
| <b>PC 2</b>               | Polvo fino, soluble | Bacterias probióticas                                                                                                      | $5.0 \times 10^9$ UFC/g          |
| <b>PC 3</b>               | Polvo fino, soluble | Bacterias probióticas                                                                                                      | $6.0 \times 10^{10}$ UFC/g       |

*Nota:* La información presentada sobre la composición exacta de las cepas y su concentración se limita a lo declarado por los fabricantes.

Cabe mencionar que la composición exacta del probiótico interno de Megalatina no está disponible por ser de uso exclusivo, no obstante, se aplicó siguiendo las dosis y frecuencias de su protocolo.

### 7.5.3 Dosificación y aplicación de los tratamientos

La aplicación del consorcio bacteriano no comercial inició desde el subestadio Nauplio 5 correspondiente al día de siembra, desde el cual se aplicó diariamente una única dosis hasta el estadio de Mysis II, incrementando progresivamente la dosis de acuerdo al desarrollo larvario. A partir del estadio de postlarva 1, hasta el día de cosecha, el consorcio fue aplicado en razón de dos dosis por día, manteniendo la cantidad de la dosis constante. Las dosis utilizadas durante el periodo experimental para el grupo tratamiento se presentan en la **Tabla 6**, mientras que las correspondientes al grupo control se detallan en la **Tabla 7**.

**Tabla 6.**

*Dosificación de probióticos del grupo Tratamiento (T1)*

| Ciclo | Estadio   | Dosis         |              | Frecuencia de aplicación por día |
|-------|-----------|---------------|--------------|----------------------------------|
|       |           | PNC (ppm/ton) | PDL (ml/ton) |                                  |
| 1     | N5 – Z1   | 5             | -            | 1 vez                            |
|       | Z2 – Z3   | 6             | -            | 1 vez                            |
| 2     | M1 – M2   | 7             | 100          | 1 vez (Ambos)                    |
| 3     | M3 – P110 | 8             | 100          | 2 veces (PNC)<br>1 vez (PDL)     |

*Nota:* PNC corresponde al probiótico no comercial de la investigación, PDL corresponde al probiótico propio del laboratorio. Cada probiótico fue aplicado alternándose en diferentes horarios.

**Tabla 7.***Dosificación de probióticos del grupo control (T2)*

| Ciclo       | Estadio      | Dosis                        |                 | Frecuencia de aplicación por día     |
|-------------|--------------|------------------------------|-----------------|--------------------------------------|
|             |              | PC1 - PC2- PC3<br>(ppm/ton)  | PDL<br>(ml/ton) |                                      |
| 1<br>2<br>3 | N5-Z1        | 5                            | -               | 1 vez                                |
|             | Z2-M3        | 4                            | 100             | 2 veces (PC)<br>1 vez (PDL desde M1) |
|             | Pl 1 – Pl 10 | Se aplica repicada en melaza | 100             | 2 veces (PC)<br>1 vez (PDL)          |

*Nota:* PC corresponde a los probióticos comerciales normalmente usados durante la producción, PDL corresponde al probiótico propio del laboratorio. La frecuencia de aplicación se basa en un esquema de rotación frecuente del laboratorio, donde se alterna el uso de cada probiótico comercial por cada día.

## 7.6 Evaluación del probiótico *in vitro*

### 7.6.1 Prueba de antagonismo:

La capacidad antagonista del probiótico fue evaluada al inicio del proyecto, mediante ensayos *in vitro* frente a bacterias de importancia en la acuicultura. Esta prueba fue realizada por un laboratorio especializado en análisis microbiológicos, con el propósito de garantizar la aplicación de procedimientos estandarizados y el uso de material y equipamiento necesario para la ejecución y obtención de resultados.

La actividad antagonista se determinó mediante la medición del diámetro de halos de inhibición generados alrededor del probiótico, evaluando su capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas (Anjum *et al.*, 2022).

## 7.7 Evaluaciones microbiológicas

### 7.7.1 Muestreos larvarios

Para evaluar la dinámica de la carga bacteriana durante el desarrollo larvario de *Penaeus vannamei*, se realizaron muestreos microbiológicos en cada uno de los ciclos de producción. En cada ciclo se efectuaron cuatro muestreos distribuidos en los diferentes estadios, tal como se muestra en la **Tabla 8**: Zoea 3 (muestreo 1), Mysis 3 (muestreo 2), postlarva 4 (muestreo 3) y postlarva 8 (muestreo 4).

**Tabla 8.**

*Frecuencia de muestreos por ciclo de producción*

| Ciclo       | Nº de muestreo | Estadio     | Cantidad de muestras |
|-------------|----------------|-------------|----------------------|
| 1<br>2<br>3 | 1              | Zoea 3      | 6                    |
|             | 2              | Mysis 3     | 6                    |
|             | 3              | Postlarva 4 | 6                    |
|             | 4              | Postlarva 8 | 6                    |

*Nota:* La cantidad de muestras corresponde a las muestras totales recolectadas por muestreo.

Se recolectó una muestra de organismos vivos de cada uno de los tanques experimentales (tres control y tres tratamiento) y posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de análisis para el respectivo procesamiento microbiológico.

## **7.7.2 Preparación de los medios de cultivo**

### **7.7.2.1 Agar TCBS**

Para la preparación de este medio de cultivo Agar TCBS, se utilizó una balanza analítica para pesar 17.60 gr del medio deshidratado. Posteriormente, el polvo fue colocado en un matraz Erlenmeyer de 200 ml con agua destilada estéril a una concentración de NaCl de 2%. Esta preparación se homogenizó y se colocó a hervir para disolver completamente el medio (MCD Lab, 2025).

### **7.7.2.2 Agar Chromagar Vibrio**

Para la preparación del medio de cultivo Chromagar *Vibrio*, se pesó 13,5 gr del medio deshidratado y se suspendió en 200 ml de agua destilada estéril en un matraz, ajustada a una concentración de NaCl de 0,4%. Esta preparación fue homogenizada y se sometida a calentamiento hasta la completa de disolución del medio (CHROMagar, 2021).

#### **7.7.2.3 Agar Cetrimide**

La preparación de agar Cetrimide se realizó pesando 9,06 gr del medio deshidratado, el cuál fue colocado en un matraz con 200 ml de agua destilada y 2ml de glicerol. La mezcla fue homogenizada y calentada hasta lograr la disolución completa del medio deshidratado y posteriormente fue esterilizado en autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 minutos para su posterior uso (Laboratorios MICROKIT, 2020).

#### **7.7.2.4 Agar TSA.**

Para la preparación de Agar TSA, se pesó 8 gr del medio deshidratado en una balanza analítica y se realizó una suspensión en agua destilada estéril en un matraz de 200 ml a una concentración de 2% de NaCl. La preparación se homogeniza y se calienta hasta obtener una disolución completa del medio de cultivo y posteriormente se somete a esterilización previo a su utilización (Condalab, 2021).

#### **7.7.3 Procesamiento microbiológico de las muestras.**

Las muestras larvarias fueron separadas del agua de cultivo utilizando un pequeño filtro estéril y posteriormente enjuagadas con agua destilada estéril. A continuación, se pesó 1 gr de larvas de cada muestra y se colocó en tubos eppendorf respectivamente. La muestra fue macerada hasta obtener un homogenizado lo

suficientemente uniforme para realizar los siguientes procedimientos (Lozano *et al.*, 2025).

#### **7.7.3.1 Preparación de diluciones seriadas**

A partir del homogenizado obtenido se realizaron diluciones seriadas utilizando tubos de ensayo estériles con 9 ml de solución salina estéril.

Como primer paso, se transfirió el homogenizado larvario al primer tubo de dilución, cuya función era ser utilizado como solución madre, del cual se realizaron las diluciones sucesivas. A partir de aquí, se realizaron 4 diluciones seriadas, cada uno con 9 ml de solución salina y 1 ml de sobrenadante de la dilución anterior (Guerrero, 2024).

#### **7.7.3.2 Siembra en agar**

A partir de las diluciones seriadas obtenidas se realizó la siembra microbiológica utilizando el método de vertido en placa. Para esto, se empleó una micropipeta para transferir 1000  $\mu$ L de la dilución a placas petri estériles y posteriormente se adicionó el medio de cultivo correspondiente previamente preparado. La mezcla se homogenizó mediante movimientos circulares suaves para favorecer la distribución uniforme de la muestra y el medio (Cruces *et al.*, 2021).

Una vez solidificado el agar, las placas fueron incubadas a una temperatura de 27°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se realizó la cuantificación de las colonias bacterianas desarrolladas en cada una de las placas para poder determinar la carga bacteriana presente en las muestras.

#### **7.7.4 Estimación de unidades formadoras de colonias (UFC)**

Se realizó el conteo en UFC por mililitro utilizando la siguiente fórmula:

$$UFC/ml = \left( \frac{\text{Número de colonias}}{\text{Volumen sembrado} \times \text{factor de dilución}} \right)$$

El factor de dilución influye directamente en los resultados en el crecimiento de colonias por esto se siguieron recomendaciones metodológicas acerca de utilizar la dilución en la que se obtienen entre 30 y 300 colonias por placa para realizar los conteos (Arana *et al.*, 2012).

### **7.8 Evaluación del probiótico *in vivo***

#### **7.8.1 Supervivencia**

La supervivencia larvaria se determinó al final de cada ciclo de producción relacionando la población final obtenida en la cosecha y la cantidad inicial de

organismos sembrados, el porcentaje de supervivencia de cada estadio de producción fue calculado utilizando la siguiente ecuación (Aquino, 2017).

$$\left( \frac{N^{\circ} \text{ de organismos al final del periodo}}{N^{\circ} \text{ de organismos al inicio del periodo}} \right) \times 100 = \% \text{ supervivencia}$$

Los valores obtenidos fueron comparados entre los tratamientos con la aplicación del consorcio probiótico y los grupos control para determinar posibles diferencias asociadas.

## **7.9 Análisis estadísticos**

Para el análisis estadístico de los datos se emplearon pruebas de normalidad, comparación de grupos, asociación y equivalencia, de acuerdo con las características de cada variable.

### **7.9.1 Prueba de Shapiro-Wilk**

Se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk a los datos de carga bacteriana y supervivencia de cada ciclo de producción, para determinar si presentaban una distribución normal. Un valor de  $p > 0,05$  indica que los datos provienen de una distribución normal, un valor de  $p < 0,05$  indica que no provienen de una distribución normal (Malato, 2025). De acuerdo con estos resultados, se seleccionó la prueba estadística

correspondiente: ANOVA para los datos que cumplieron con el supuesto de normalidad y Kruskal-Wallis para aquellos que no lo cumplieron.

### **7.9.2 Análisis de varianza (ANOVA)**

La prueba de ANOVA se aplicó cuando los datos cumplieron con el supuesto de normalidad, permitiendo determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los grupos evaluados. Esta prueba permite comparar las medias entre grupos (Lund Research Ltd, 2018). En este estudio, se utilizó para comparar los recuentos bacterianos entre los diferentes tiempos de muestreo.

### **7.9.3 Kruskal-Wallis**

Esta prueba se utilizó como método no paramétrico para los datos de carga bacteriana que no cumplieron con el supuesto de normalidad, permitiendo comparar la distribución de los recuentos bacterianos entre los grupos evaluados y determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas. Se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de  $p < 0,05$  (Thomas, 2024).

### **7.9.4 Prueba exacta de Fisher**

Se utilizó para evaluar la asociación entre variables categóricas organizadas en tablas de contingencia (Elsevier, 2026). En este estudio, permitió determinar la

asociación entre la aplicación del consorcio y la presencia o ausencia de bacterias patógenas en los muestreos. Se consideró un valor de  $p < 0,05$  para determinar que existía una asociación estadísticamente significativa.

#### **7.9.5 Análisis de equivalencia TOST**

El método TOST (Two One-Sided Tests) se utilizó para evaluar la equivalencia de la supervivencia entre el grupo tratado con el consorcio y el grupo control. Esta prueba permite determinar si la diferencia entre las medias de dos grupos se encuentra dentro de un margen de equivalencia establecido (Jurado, 2024). En este estudio, se estableció un margen de  $\pm 5$  puntos porcentuales, permitiendo determinar si la supervivencia de ambos grupos era equivalente.

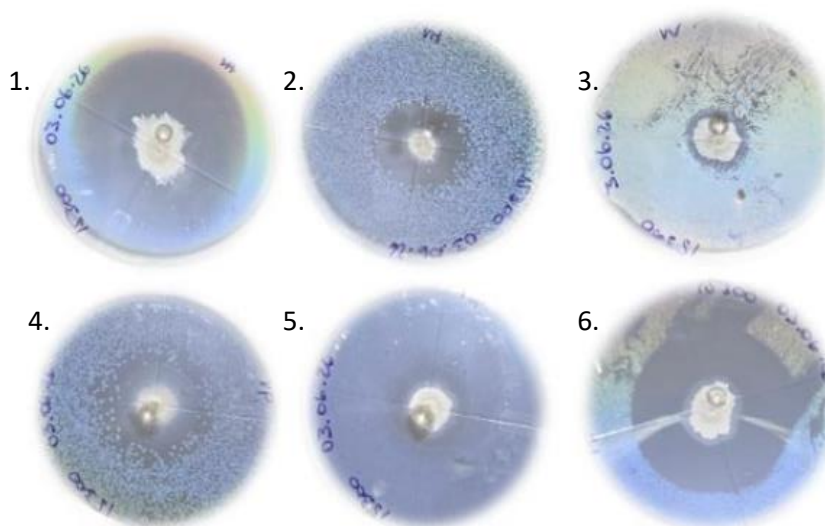
## 8. RESULTADOS

### 8.1 Evaluación *in vitro* del consorcio bacteriano probiótico

La evaluación de la actividad antagonista del consorcio bacteriano probiótico permitió determinar su capacidad inhibitoria frente a diferentes cepas bacterianas evaluadas, como resultado se observó la formación de zonas claras alrededor de la aplicación del consorcio, estas zonas corresponden a los halos de inhibición del crecimiento bacteriano (**Figura 7**).

**Figura 7**

*Halos de inhibición formados a partir de la prueba de antagonismo*



**Nota:** 1. *Vibrio alginolyticus* (40 mm), 2. *Vibrio harveyi* (22 mm), 3. *Vibrio vulnificus* (8 mm), 4. *Vibrio parahaemolyticus* (30 mm), 5. *Pseudomonas fluorescens* (12 mm), 6. *Pseudomonas sp.* (32 mm)

En la **Tabla 9** se presentan los resultados del diámetro de los halos de inhibición obtenidos frente a las diferentes cepas bacterianas. Se observaron variaciones en el tamaño del diámetro de los halos dependiendo de la cepa bacteriana enfrentada. El mayor efecto inhibitorio se registró frente a *Vibrio alginolyticus*, con un halo de inhibición de 40 mm, seguido de *Pseudomonas sp.* con 32 mm y *Vibrio parahaemolyticus* con 30 mm. Por otro lado, se observó menor diámetro de inhibición frente a *Vibrio harveyi* (22mm), *Pseudomonas fluorescens* (12 mm) y *Vibrio vulnificus* (8 mm).

**Tabla 9.**

Halos de inhibición (mm) del consorcio probiótico

| Tratamiento                            | Bacteria evaluada              | Halo de inhibición |
|----------------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| <b>Consortio bacteriano probiótico</b> | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 30 mm              |
|                                        | <i>Vibrio alginolyticus</i>    | 40 mm              |
|                                        | <i>Vibrio harveyi</i>          | 22 mm              |
|                                        | <i>Vibrio vulnificus</i>       | 8 mm               |
|                                        | <i>Pseudomonas sp</i>          | 32 mm              |
|                                        | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 12 mm              |

*Nota:* Medidas de los halos de inhibición obtenidos en la prueba de antagonismo el probiótico frente a diferentes bacterias patógenas.

En conjunto, los datos obtenidos de la prueba de antagonismo indican que el consorcio bacteriano ejerce un efecto inhibitorio sobre todas las cepas bacterianas evaluadas, sin embargo, el efecto inhibitorio varía según el microorganismo.

## **8.2 Comparación microbiológica de la carga bacteriana entre tratamientos**

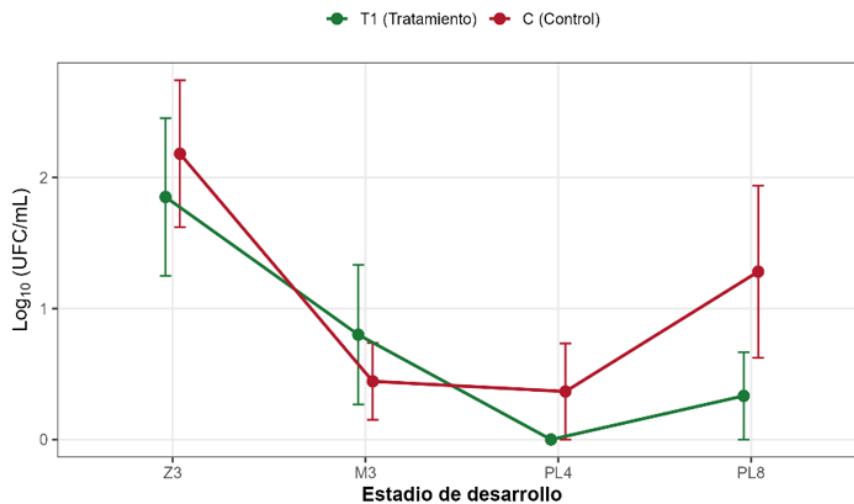
### **8.2.1 Colonias verdes**

A lo largo de los ciclos de producción se obtuvo la presencia de colonias verdes en varias de las pruebas microbiológicas. En el estadio de Zoea se registró la mayor carga de estas colonias en ambos grupos experimentales. El grupo tratamiento presentó una media y desviación estándar de:  $1,851 \pm 1,805 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/ml}$ , mientras que los datos del grupo control presentaron una media ligeramente mayor:  $2,185 \pm 1,683 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/ml}$ .

A medida que avanzaron los estadios, se observó una tendencia de la dinámica de colonias verdes a disminuir en ambos grupos hasta postlarva 4, ya que en el estadio de postlarva 8 se observó un incremento de la carga bacteriana de colonias verdes en los tanques del grupo control, esto apareció de manera controlada en los tanques de tratamiento, lo que reveló un ligero mejoramiento del control en la recolonización tardía con la aplicación del probiótico (**Figura 8**).

**Figura 8**

*Tendencia de la carga (Log10) de colonias verdes por estadio.*

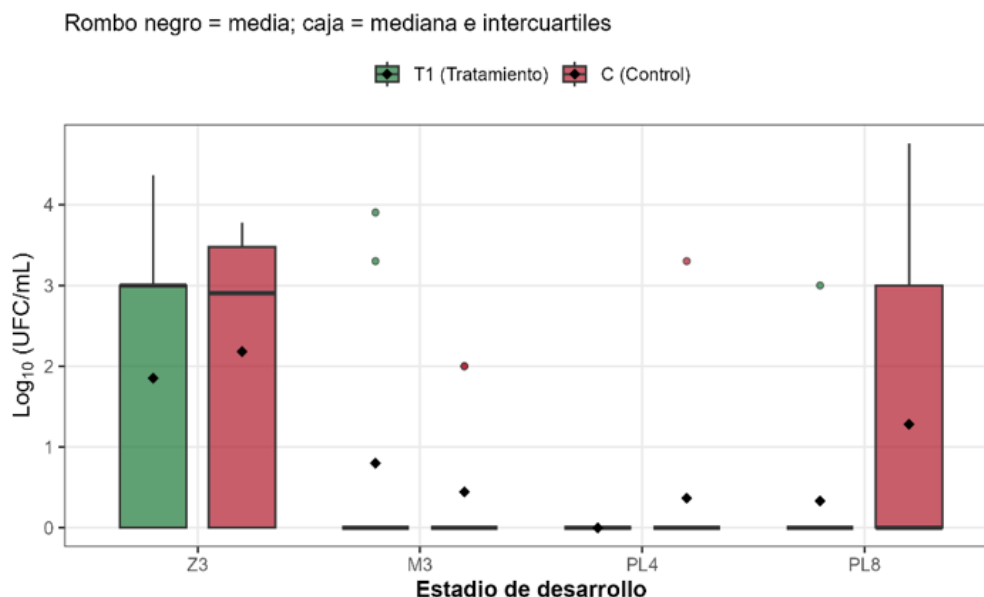


*Nota:* En la gráfica se observa una reducción inicial de la carga bacteriana de colonias verdes en ambos grupos desde el estadio Z3 hasta PL4. Se observa la divergencia en el estadio PL8 donde se ve un incremento microbiano en el grupo control a comparación del tratamiento.

El análisis de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk indicó que los datos no presentaban una distribución normal, por lo que se realizó la comparación de la distribución de la carga bacteriana entre los grupos mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, la cual no mostró diferencias estadísticamente significativas para colonias verdes entre ambos grupos ( $H= 1.358$ ;  $p= 0.244$ ). A pesar de esto, la **(Figura 9)** detalla que la reducción de la carga bacteriana fue consistente en la mayoría de réplicas del grupo tratamiento, ya que el grupo control presentó una mayor variabilidad en el incremento en los muestreos de postlarva 8.

**Figura 9**

*Distribución de la carga (Log10) de colonias verdes por estadio.*

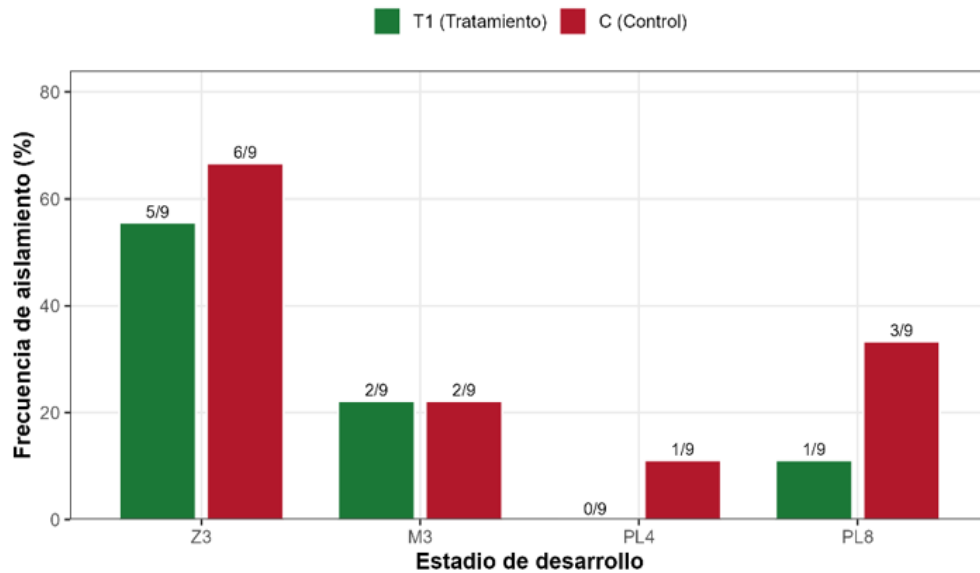


*Nota:* La gráfica muestra que, al inicio de la investigación, la carga bacteriana era sumamente variable entre replicas en colonias verdes, sin embargo, para P18 se evidencia que en los tanques de tratamiento no existió un rebrote bacteriano como en los tanques control.

La frecuencia de aislamiento de colonias verdes (**Figura 10**) complementó los resultados anteriores, ya que demostró la incidencia inicial alta en ambos grupos durante Zoea (Tratamiento 55.6% y control 66.7%) y su disminución progresiva a lo largo del cultivo. Además, demostró que la frecuencia de aislamiento en el grupo control se mantuvo elevada (44.4%) en el estadio de postlarva 8, mientras que en el grupo tratamiento descendió a (22.2%).

**Figura 10**

*Frecuencia de aislamiento de colonias verdes por estadio*



*Nota:* Porcentaje de muestras positivas a la presencia de colonias verdes en los diferentes estadios larvarios. Las fracciones sobre la barra indican el número de aislamientos positivos con respecto al total de réplicas analizadas por grupo en cada muestreo, evidenciando que el tratamiento con el probiótico disminuye la carga de colonias verdes en contraste con el grupo control.

Ambos grupos presentaron una reducción promedio cercana al 80% de la carga bacteriana perteneciente a colonias verdes lo que confirma que la disminución de las colonias fue una tendencia general del cultivo. Sin embargo, el análisis de persistencia mostró que las colonias verdes se detectaron en un menor número de estadios en el grupo tratamiento que en el control.

Estos resultados permiten comparar el efecto del consorcio probiótico sobre la carga de colonias verdes, a pesar de que la prueba de Kruskal-Wallis no encontró diferencia significativas, el análisis de tendencia y frecuencia de aislamiento reveló un efecto biológico del tratamiento al inducir una eliminación temprana de estas bacterias o un control más efectivo, sugiriendo que el consorcio puede favorecer una pequeña mejora en la estabilidad microbiológica con respecto a colonias verdes.

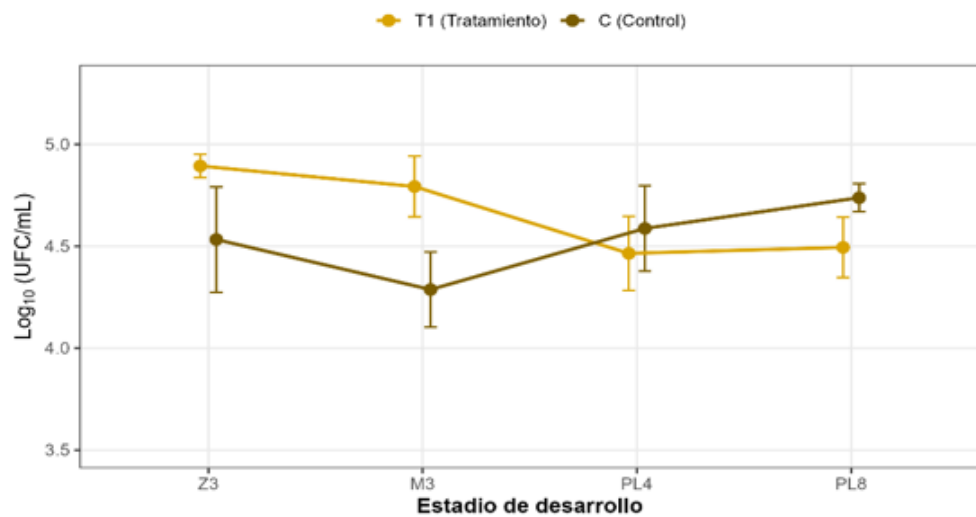
### **8.2.2 Colonias amarillas**

A diferencia de la disminución observada en la dinámica de colonias verdes, el grupo de las colonias amarillas mostró una presencia constante, con cargas elevadas a lo largo de todo el periodo experimental, donde el grupo control presentó una media de (4.5 Log<sub>10</sub> UFC/ml) y el grupo tratamiento (4.7 Log<sub>10</sub> UFC/ml).

Al analizar la tendencia de la carga de colonias amarillas (**Figura 11**) se logró observar una dinámica diferenciada entre los grupos. En el grupo tratamiento, se observó una leve tendencia decreciente en la carga bacteriana desde el estadio de Zoea 3 hasta postlarva 8, mientras que el grupo control presentó una tendencia inversa donde empezó con una carga más baja en Zoea 3 y se incrementó progresivamente hasta el estadio de postlarva 8. Esta diferencia sugiere que el consorcio pudo haber influido en la dinámica poblacional de las colonias amarillas evitando el incremento observado en el grupo Control

**Figura 11**

*Tendencia de la carga (Log10) de colonias amarillas por estadio*

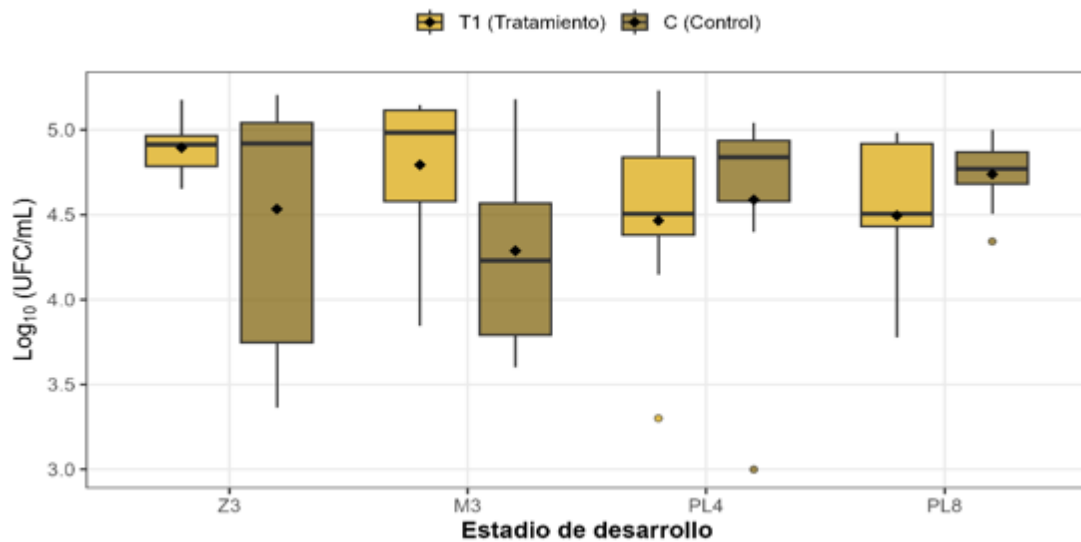


*Nota:* Se observa que el grupo control inicia con una media de (4.5 Log<sub>10</sub> UFC/ml) y el grupo tratamiento con (4.7 Log<sub>10</sub> UFC/ml), presentando un contraste entre el incremento progresivo registrado en el grupo control y la disminución de la carga del grupo tratamiento.

El análisis de normalidad realizado con la prueba de Shapiro-Wilk mostró que los datos no tuvieron una distribución normal en ninguno de los tratamientos, por lo que se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para la comparación de ambos grupos. Los resultados demostraron que no hay diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $H = 0.464$ ;  $p = 0.496$ ). La similitud entre ambos grupos se evidencia en la (**Figura 12**), Donde se logró observar que los rangos de los valores de la distribución de la carga bacteriana no se diferencian de manera clara a lo largo de los ciclos de producción.

**Figura 12**

*Distribución de la carga (Log10) de colonias amarillas por estadio*

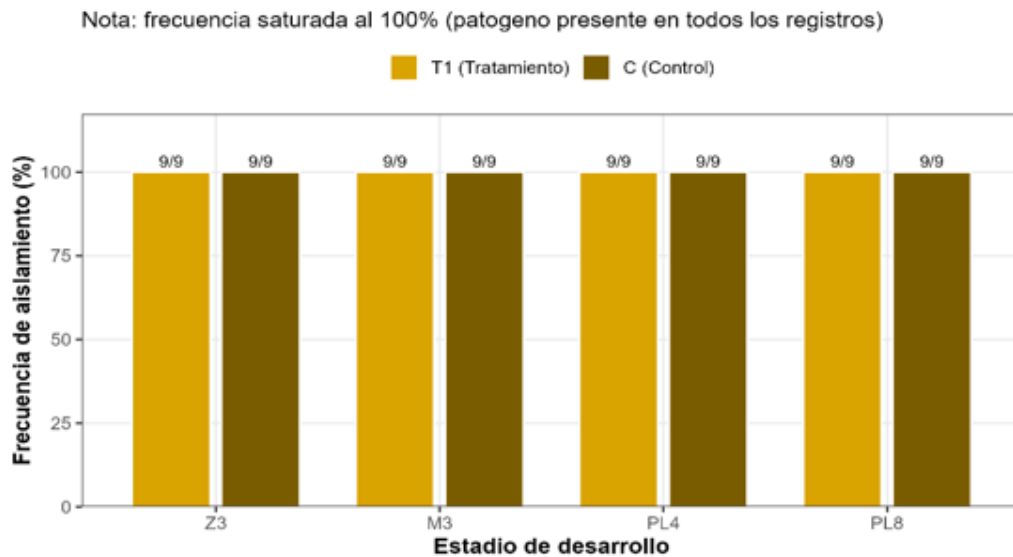


*Nota:* Tendencia de la carga bacteriana promedio correspondiente colonias amarillas a lo largo de los cuatro estadios de desarrollo larvario.

La frecuencia de aislamiento (**Figura 13**) fue completa en todos los estadios evaluados tanto para el grupo tratamiento como para el grupo control y la persistencia fue constante durante todos los ciclos productivos. Sin embargo, estos indicadores no permitieron encontrar diferencias entre ambos tratamientos, pero se mostró una reducción promedio aproximadamente de 0,40 log<sub>10</sub> UFC/ml en el tratamiento, lo que equivale a una disminución del 60%, mientras que en el grupo control se observó un ligero incremento de aproximadamente 0,21 Log<sub>10</sub> UFC/ml.

**Figura 13**

*Frecuencia de aislamiento de colonias amarillas por estadio*



*Nota:* La gráfica muestra que la frecuencia de aislamiento no varía en los grupos de tratamiento y control alcanzando la total prevalencia en los cuatro estadios muestreados para ambos grupos.

Con los resultados obtenidos se observó la mínima diferencia en las medias de las cargas bacterianas, mismas que no resultaron estadísticamente significativas. A pesar de esto, el análisis de tendencia de la carga demostró que en el grupo tratamiento disminuyó ligeramente a lo largo del cultivo mientras que en el grupo control hubo un incremento de esta. La tendencia decreciente del tratamiento sugiere que aunque el consorcio no logró disminuir significativamente la carga de colonias amarillas, si contribuye a mantener un mejor control, evitando el incremento de estas y mejorando la estabilidad microbiológica del sistema.

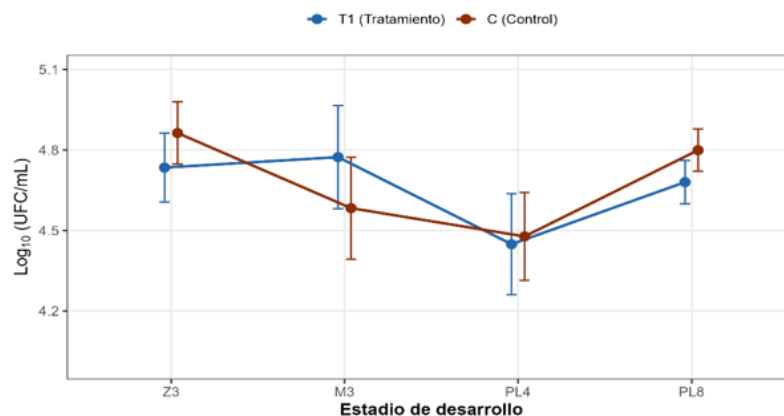
### 8.2.3 *Vibrio alginolyticus*

La carga de *Vibrio alginolyticus* se mantuvo elevada y estable durante todo el período experimental en ambos grupos, la media de la carga registró valores de 4,66 Log<sub>10</sub> UFC/mL en el grupo tratamiento, mientras que en el grupo control fue de 4,68 Log<sub>10</sub> UFC/ml, indicando que la abundancia está bacteria fue constante.

Al analizar la tendencia de la carga (**Figura 14**) se logró observar que ambos grupos presentaron un patrón similar, donde existe un descenso progresivo hasta postlarva 4 con un incremento en ambos grupos en el estadio de postlarva 8, lo que sugiere que la población de esta bacteria no se vió influenciada por la aplicación del consorcio probiótico. La (**Figura 15**), respalda este resultado al mostrar rangos similares en ambos grupos.

**Figura 14**

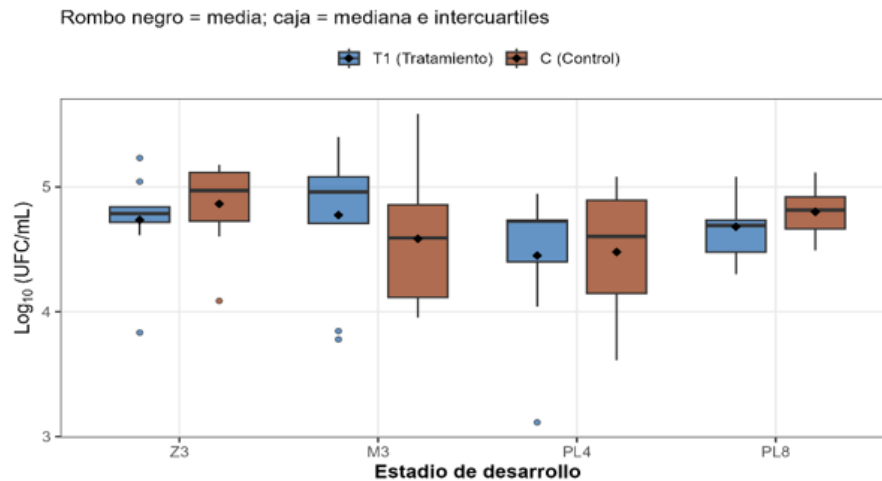
*Tendencia de la carga (Log10) de Vibrio alginolyticus por estadio*



*Nota:* La tendencia de la carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus* no presenta diferencias significativas entre tratamiento y control.

**Figura 15**

*Distribución de la carga (Log10) de V. alginolyticus por estadio*



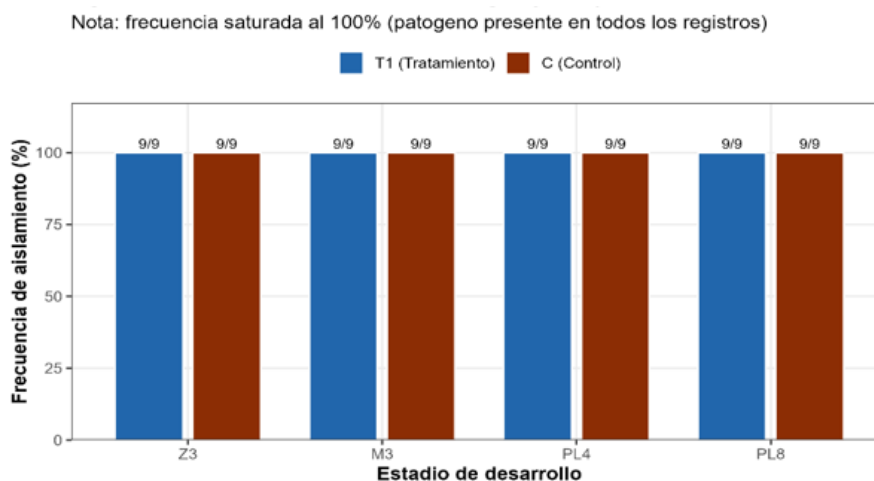
**Nota:** La gráfica refleja una alta dispersión y variabilidad de los datos.

La prueba de Shapiro-Wilk demostró que únicamente el grupo control presentó una distribución normal, por lo que se usó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, esta no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ( $H_c = 0.021$ ;  $p = 0.884$ ).

La frecuencia de aislamiento (**Figura 16**), mostró una presencia constante de *V. alginolyticus* a lo largo de todo el estudio. La bacteria se detectó en todas las muestras analizadas, lo que evidencia a esta bacteria como parte de la microbiota habitual del sistema de cultivo sin que el consorcio logró modificar su presencia o dinámica poblacional, simplemente mantenimiento su control.

**Figura 16**

*Frecuencia de aislamiento de V. alginolyticus por estadio*



*Nota:* La gráfica evidencia que la colonización de *Vibrio alginolyticus* es totalmente constante en los ciclos de producción.

A pesar de que en las pruebas *in vitro* el consorcio presentó el mayor halo de inhibición frente *V. alginolyticus* (40 mm), este efecto no se presentó de la misma manera en la dinámica poblacional de la bacteria dentro del sistema de cultivo. Esto puede atribuirse a que las condiciones controladas de la prueba antagónica no presentan la misma complejidad de un sistema de producción.

Con estos resultados se logró deducir que la aplicación del consorcio probiótico no logró reducir la carga de *Vibrio alginolyticus*. A pesar de que en las pruebas *in vitro* el consorcio presentó el mayor halo de inhibición frente *V. alginolyticus* (40 mm), este efecto no se presentó de la misma manera en la dinámica poblacional de la

bacteria dentro del sistema de cultivo. Esto puede atribuirse a que las condiciones controladas de la prueba antagónica no presentan la misma complejidad de un sistema de producción. La presencia constante y elevada de la bacteria, indica que esta se encuentra adaptada al entorno de producción.

#### **8.2.4 Bacterias marinas**

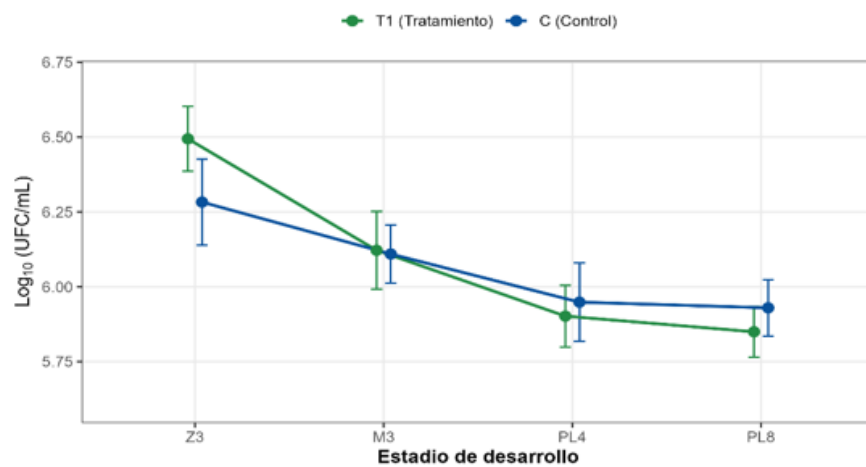
La carga de bacterias marinas corresponde a la carga general obtenida del crecimiento en agar TSA, esta se mantuvo elevada ( $10^6$  UFC/ml) durante todo el período experimental para ambos grupos. La media de la carga bacteriana fue (Tratamiento: 6.092 Log<sub>10</sub> UFC/ml y Control: 6.068 Log<sub>10</sub> UFC/ml).

En la tendencia de la carga de bacterias marinas (**Figura 17**) se observó un descenso progresivo en ambos grupos a medida que avanzaba el desarrollo larvario, donde el grupo del consorcio presentó una disminución de 6.494 hasta 5.850 Log<sub>10</sub> UFC/ml, mientras que el control pasó de 6.283 hasta 5.930 Log<sub>10</sub> UFC/ml. Esta disminución fue ligeramente más pronunciada en el grupo tratamiento lo que sugiere una posible influencia del consorcio en la reducción de la carga bacteriana general.

La distribución de la carga bacteriana (**Figura 18**) permitió complementar esta observación ya que demostró que los rangos de los valores son similares entre ambos grupos, con una tendencia ligeramente más baja en los valores del grupo tratamiento en los estadios finales.

**Figura 17**

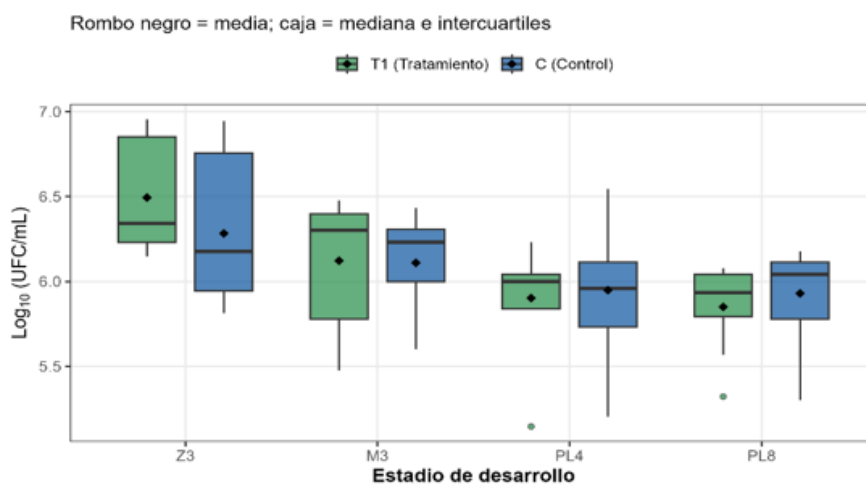
*Tendencia de la carga (Log10) de bacterias marinas por estadio*



*Nota:* La grafica muestra cargas globales notablemente más altas, y un descenso más pronunciado con respecto a los tanques del grupo control.

**Figura 18**

*Distribución de la carga (Log10) de bacterias marinas por estadio*



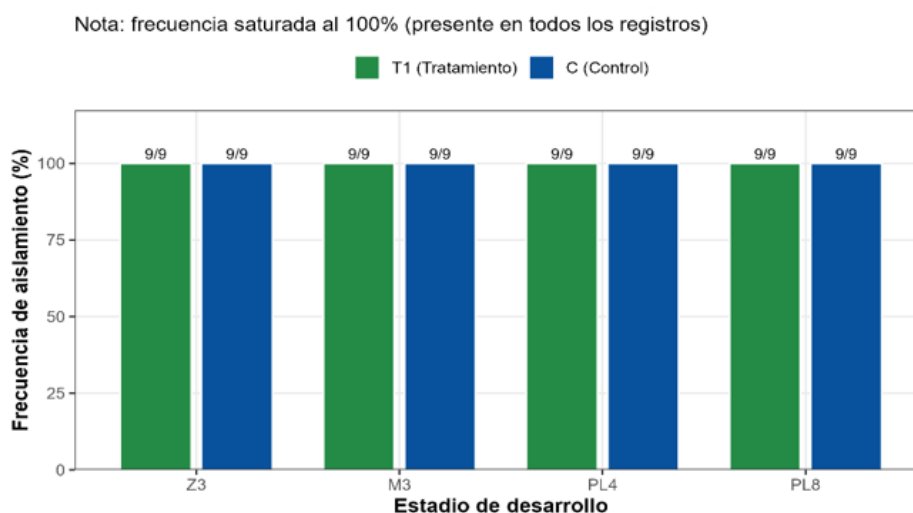
*Nota:* Se observa la disminución progresiva en los grupos tratamientos y control de la carga de bacterias marinas a medida que avanzan los estadios de desarrollo.

El análisis de Shapiro-Wilk mostró que ambos tratamientos presentan una distribución normal de los datos (Tratamiento  $p=0.744$ ; control  $p=0.677$ ) por lo que la comparación se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA). Los resultados no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. La prueba de Levene confirmó la homogeneidad de las varianzas, mientras que el factor de Bayes indicó evidencia a favor de la igualdad de medias entre ambos grupos.

La frecuencia de aislamiento de bacterias marinas (**Figura 19**) demostró que se mantuvieron presente totalmente en todas las muestras analizadas a lo largo de todo el experimento.

**Figura 19**

*Frecuencia de aislamiento de Bacterias marinas por estadio*



*Nota:* La frecuencia de bacterias marinas se mantiene de manera constante.

Los resultados obtenidos para bacterias marinas no presentaron diferencias significativas entre ambos grupos, lo que permite analizar que la aplicación del consorcio probiótico no alteró la carga total de las bacterias presentes en el sistema. Sin embargo, la ligera tendencia decreciente observada en el grupo tratamiento sugiere que pudo haber contribuido en un mejor control de la comunidad bacteriana general.

#### **8.2.5 Otros patógenos (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *Pseudomonas sp*).**

La prevalencia de todos los patógenos aislados fue baja a moderada durante todo el período experimental y no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos para ninguno de los microorganismos analizados.

*Vibrio parahaemolyticus* presentó una prevalencia global de 11.1% con la misma frecuencia de detección en ambos grupos, su presencia solo aparece en el estadio Zoea 3 y no se registró su presencia en las etapas posteriores del cultivo.

*Vibrio vulnificus* registró una prevalencia global de 18.1%, esta prevalencia se presentó en menor cantidad de aislamientos en el grupo tratamiento (13.9%) a comparación del grupo control (22.2%). Al igual que *Vibrio parahaemolyticus*, la mayoría de los aislamientos ocurrieron en Zoea 3, con ciertas detecciones en Mysis

3 y un único aislamiento en postlarva 8 (dentro del tratamiento). A pesar de esto, la diferencia no fue estadísticamente significativa.

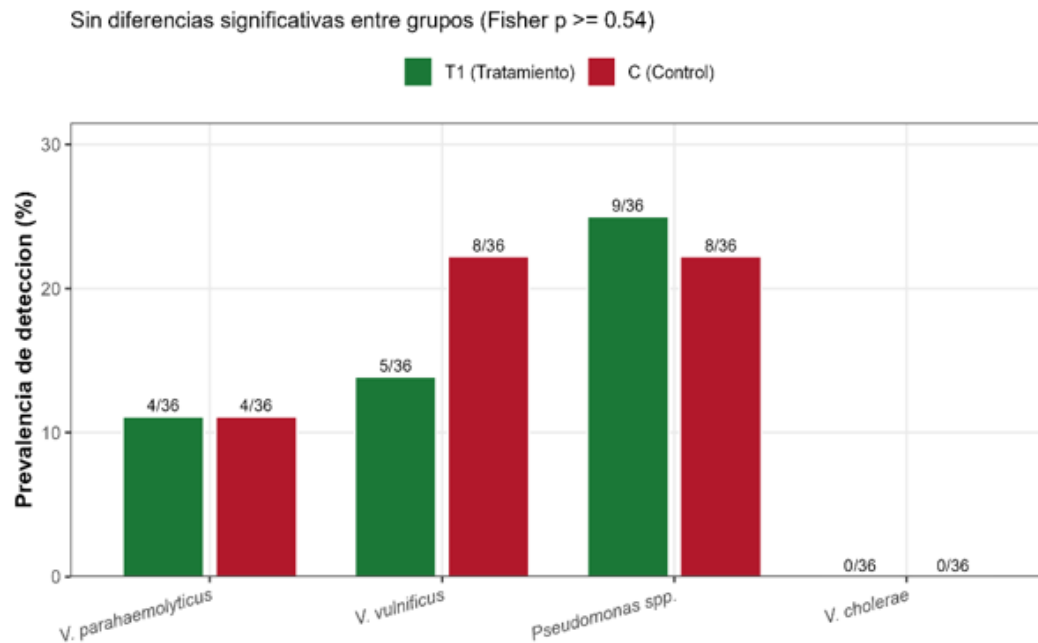
En el caso de *Pseudomonas sp.* se obtuvo la mayor prevalencia global entre los microorganismos evaluados con un 23.6%. Con una detección positiva en el grupo tratamiento de 25% y control 22.2%. A diferencia de las otras especies este microorganismo se registró en Mysis 3 alcanzando su mayor frecuencia en postlarva 8.

*Vibrio cholerae* no fue aislado en ninguna de las 72 muestras analizadas, este patógeno se encontró ausente durante todo el tiempo que duró el ensayo experimental.

Los resultados en este punto permiten comparar el efecto del consorcio probiótico en la presencia de patógenos de detección esporádica en el cultivo. Aunque no se encontraron diferencias significativas, el análisis revela patrones de aparición diferenciados biológicamente para cada patógeno donde la aparición de *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en estadios tempranos puede verse relacionada con la microbiota inicial del sistema y la aparición de *Pseudomonas sp.* en los estadios avanzados puede deberse al incremento de biomasa y materia orgánica (**Figura 20**).

**Figura 20**

*Prevalencia de patógenos de detección esporádica*

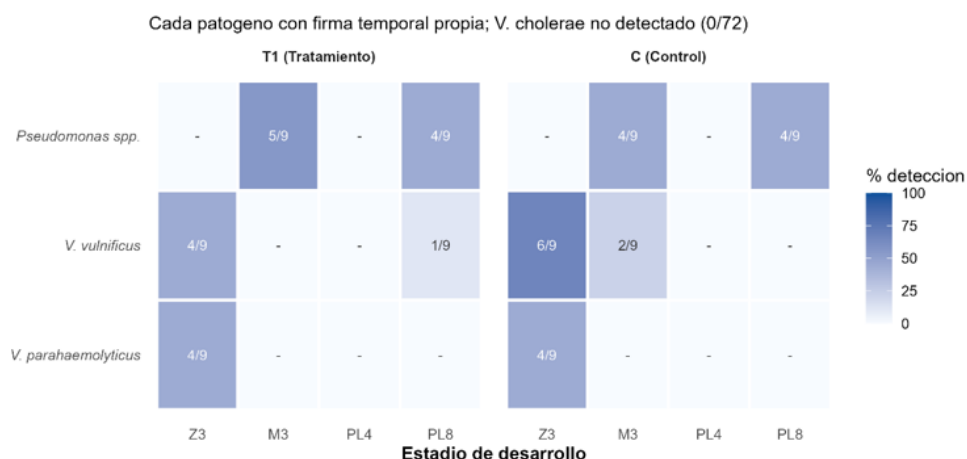


*Nota:* La inferencia se hizo con Fisher a nivel de unidad tanque x ciclo ( $n = 9/\text{grupo}$ ) para evitar pseudoreplicación por medidas repetidas entre estadios. En ningún patógeno hubo diferencia significativa entre grupos. *V. cholerae* no se aisló en ninguna de las 72 muestras.

Cada microorganismo presentó en la dinámica temporal particular con aislamientos distinguidos en determinados estadios larvarios y sin la presencia continua a lo largo del cultivo (**Figura 21**).

**Figura 21**

*Detección por estadio de patógenos esporádicos*



*Nota:* Patógenos con patrón temporal: *V. parahaemolyticus* se detecta solo en Z3 (estadio temprano) y desaparece después; *V. vulnificus* se concentra en Z3 con presencia residual en M3 (control) y un caso tardío en PL8 (T1), *Pseudomonas spp.* muestra el patrón inverso ausente en Z3 y presente solo desde M3 en adelante, con foco en PL8. Ningún patógeno persiste de forma continua a lo largo del cultivo.

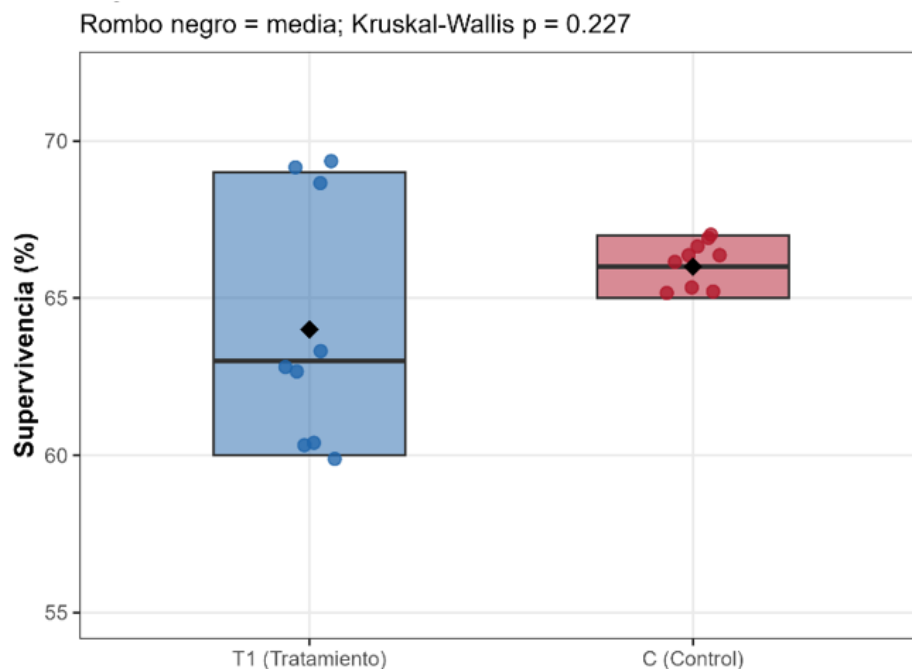
### 8.3 Tasa de supervivencia en tanques control y tratamiento

La tasa de supervivencia media para el grupo control fue 66.0% mientras que para el tratamiento fue de 64.0%. Sin embargo, se presenta un contraste en la variabilidad entre ambos grupos. En el grupo control, la supervivencia en los tanques fue homogénea y estable, manteniéndose en un rango entre 65% y 67%, con una baja desviación estándar ( $DE = 0,87$ ). El grupo tratamiento, por otro lado, tuvo un comportamiento más disperso con valores oscilando en un rango entre 60% y 69% y una desviación estándar de ( $DE = 3.97$ ) (**Figura 22**).

Se evaluó la normalidad de los datos mediante una prueba de Shapiro-Wilk, en donde ambos grupos mostraron datos de una distribución anormal, por lo que se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para el contraste de medianas. Se obtuvo un valor de  $H_c=1.457$ ;  $p = 0.227$ , que al ser mayor al nivel de significancia alfa tradicional (0.05), se concluye que no existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de supervivencia entre el grupo tratamiento y control.

**Figura 22**

*Tasa de supervivencia por tratamiento*



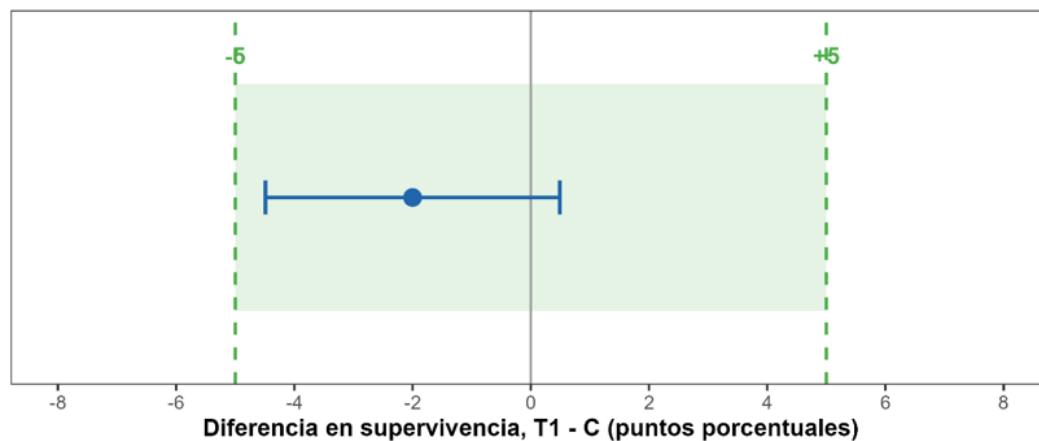
Nota: La supervivencia media fue de 64.0% en T1 y 66.0% en C, con una diferencia de 2 puntos porcentuales a favor del control. T1 presentó mayor variabilidad entre ciclos (rango 60-69%; DE 3.97) que C (rango 65-67%; DE 0.87).

Se procedió a realizar un análisis de equivalencia mediante la prueba TOST, utilizando un margen de equivalencia definido a priori de  $\Delta = \pm 5$  puntos porcentuales. El intervalo de confianza del 90% para la diferencia de medias se ubicó entre (-4.49%; +0.49%), lo que resultó estadísticamente significativo considerando que se encuentra dentro del margen de tolerancia establecido ( $\pm 5\%$ ) demostrando que el tratamiento es equivalente al control (**Figura 23**).

**Figura 23**

*Prueba de equivalencia TOST: Tratamiento vs control*

IC 90% de la diferencia dentro del margen  $\pm 5 \Rightarrow$  equivalencia



Nota: se aplicó una prueba de dos pruebas t unilaterales (TOST) con un margen de equivalencia de 5 puntos porcentuales de supervivencia, definido a priori como la mínima diferencia biológicamente relevante. T1 es estadísticamente equivalente al control dentro de  $\pm 5\%$ .

#### 8.4 Análisis de los resultados obtenidos

La prueba antagónica *in vitro* del consorcio bacteriano demostró que este presenta una fuerte capacidad antagonista frente a todas las cepas evaluadas, la diferencia radica en que la intensidad de inhibición fue diferente para cada microorganismo, los mayores halos se registraron para *V. alginolyticus* (40 mm), *V. parahaemolyticus* (30 mm) y *Pseudomonas sp.* (32 mm). Mientras que los menores halos se presentaron en *V. harveyi* (22 mm), *P. fluorescens* (12 mm) y *Vibrio vulnificus* (8 mm). Esto permitió comprobar que el probiótico si presenta una actividad antagonista frente a bacterias patógenas de manera *in vitro*, respaldando si utilización para la evaluación *in vivo* en condiciones de cultivo controladas.

Los resultados de los muestreos microbiológicos para la comparación de la reducción de la carga bacteriana demostraron que la aplicación del probiótico no reduce de manera estadísticamente significativa la presencia de las bacterias aisladas del cultivo. Sin embargo, su aplicación permite mantener la dinámica microbiológica de manera similar a la observada en la aplicación de la metodología tradicional de laboratorio. Los resultados evidencian que, aunque el probiótico no disminuye la carga bacteriana de los cultivos, si puede ser utilizado dentro de estos, ya que la data obtenida evidencia que su aplicación permite mantener un adecuado control de las poblaciones bacterianas sin alterar el equilibrio microbiano del sistema de producción.

Con respecto a los resultados de supervivencia, se logró comprobar que la aplicación del consorcio bacteriano no compromete el rendimiento productivo de los ciclos de producción, ya que las pruebas de equivalencia demostraron que los porcentajes de supervivencia de ambos grupos fueron semejantes en todos los ciclos de producción para ambos grupos experimentales.

Como análisis final se deduce que el consorcio bacteriano probiótico no comercial brindó resultados favorables tanto en la evaluación *in vitro* como durante su aplicación *en vivo*. A pesar de que su aplicación en el sistema de cultivo no mostró una reducción estadísticamente significativa de las cargas bacterianas obtenidas, sí mostró resultados favorables con respecto a un mejor control y conservación del equilibrio de la microbiota del sistema.

Los resultados de la supervivencia comprobaron que la aplicación del probiótico no comprometió el rendimiento productivo de los ciclos de producción, ya que las pruebas de equivalencia demostraron que los porcentajes de supervivencia fueron semejantes en ambos grupos durante todos los ciclos evaluados. En conjunto, se demuestra que la aplicación de este consorcio constituye una alternativa biológica viable y que su aplicación durante la producción larvaria de *Penaeus vannamei* permite mantener un desempeño microbiológico y productivo similar al manejo tradicional utilizado por el laboratorio.

## DISCUSIONES

Los resultados obtenidos evidenciaron que el consorcio bacteriano presentó actividad antagonista frente a todas las bacterias evaluadas. Los mayores halos se observaron frente a *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas sp.* y *Vibrio parahaemolyticus*, mientras que *Vibrio vulnificus* presentó la menor susceptibilidad. Estos resultados sugieren que la eficacia inhibitoria depende de la especie evaluada. En este sentido, observaciones similares fueron reportadas por Ringø *et al.* (2020) y Hoseinifar y Sun (2018), quienes coincidieron en que el éxito inhibitorio de un probiótico está estrechamente ligado tanto a las propiedades de la cepa empleada como a la propia biología del patógeno con el que entra en contacto.

El amplio rango de inhibición observado puede atribuirse a la combinación de microorganismos presentes en el consorcio, ya que los probióticos multicepa suelen presentar ventajas frente a las formulaciones de cepas individuales debido a fenómenos de sinergia bacteriana. Estudios recientes, como el realizado por Puvanasundram *et al.* (2021), señalan que la combinación de diferentes cepas probióticas permite la integración de múltiples funciones metabólicas, favoreciendo la diversidad funcional del consorcio mediante la acción complementaria de las cepas que lo conforman. Esto se complementa con lo descrito por Butt *et al.* (2021), donde indican que los probióticos multicepa ofrecen ventajas frente a las

formulaciones de una sola cepa debido a la complementariedad de sus mecanismos de acción, generando un efecto combinado que reduce la incidencia de enfermedades bacterianas y pueden favorecer la supervivencia y estabilidad del cultivo.

Esta capacidad de inhibición se vio reflejada en las evaluaciones microbiológicas realizadas durante los cultivos. A pesar de que, en los primeros estadios, las cargas bacterianas fueron similares, en las etapas finales, el grupo tratado mantuvo recuentos ligeramente menores a diferencia del control. Este comportamiento indica que el consorcio logró mantener una dinámica microbiana más equilibrada. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Ramírez *et al.* (2022) y Pazmiño *et al.* (2026), quienes evidenciaron la protección de los organismos de *Penaeus vannamei* contra *V. parahaemolyticus* mediante consorcios bacterianos. Además, estos estudios se complementan con el realizado por Xiong (2018), quien demostró que la estabilidad de la microbiota intestinal constituye uno de los principales mecanismos mediante los cuales los probióticos reducen la proliferación de *Vibrios* y favorecen la salud de los organismos. De la misma manera, Lozano *et al.* (2025) evidenció que la aplicación de consorcios probióticos favorece el control de bacterias patógenas *Vibrio spp.* y *Pseudomonas*, mejorando las condiciones microbiológicas del cultivo de *Penaeus vannamei*.

En el cultivo de larvas de *Penaeus vannamei*, el desempeño productivo no depende solo de la presencia o ausencia de microorganismos patógenos, sino también del equilibrio establecido en la comunidad microbiana. Según menciona Vega *et al.*, (2024), factores como la microbiota, la calidad del agua y la capacidad del huésped para responder a los cambios ambientales influyen en la estabilidad microbiológica del cultivo. En este contexto, el principal beneficio, como señala Amiin *et al.* (2023), no radica únicamente en la inhibición directa de microorganismos patógenos, sino también en su capacidad para modular la microbiota del cultivo y mejorar la calidad del agua, efectos que son más pronunciados durante las etapas larvaria y de postlarva.

Este punto de vista es consistente con los resultados obtenidos en la presente investigación, donde los efectos observados tras la aplicación del consorcio estuvieron relacionados con una mejora en el equilibrio microbiológico del sistema de cultivo. De forma similar, Mathan et al. (2024) y Thompson et al. (2024), señalan que la reducción y el control de bacterias oportunistas contribuyen al mantenimiento de una comunidad microbiana equilibrada y mejores condiciones de cultivo para el desarrollo larvario.

La estabilidad microbiológica observada en los tanques tratados también se reflejó en el desempeño productivo de las larvas. A pesar de que el grupo tratamiento presentó una tasa de supervivencia ligeramente inferior respecto al control, el

análisis estadístico no evidenció diferencias significativas entre ambos grupos. Esto indica que la aplicación del consorcio no comprometió la supervivencia de las larvas, manteniendo un desempeño productivo similar al del manejo tradicional del laboratorio. Estos resultados coinciden con lo señalado por Golder *et al.* (2022) y Goh *et al.* (2022), quienes indicaron que la respuesta en la supervivencia con el uso de probióticos puede variar entre estudios, dependiendo de las condiciones del cultivo y las características del probiótico utilizado. En este sentido, Khanjani *et al.* (2024), concluyeron que, más allá del incremento en la supervivencia, los consorcios probióticos representan una de las estrategias más prometedoras para fortalecer la resiliencia sanitaria de los sistemas de producción intensiva de camarón, al reducir la proliferación de *Vibrio spp*, estabilizar la microbiota intestinal y mejorar la respuesta fisiológica de los organismos ante condiciones de estrés.

En conjunto, los resultados obtenidos muestran una secuencia de eventos caracterizada por actividad antagonista frente a bacterias patógenas, reducción de la carga bacteriana durante el cultivo y mantenimiento de una supervivencia en el grupo tratado comparable a la del grupo control. Esto permite deducir que el beneficio del consorcio no depende de un único mecanismo de acción, sino de la interacción de diversos procesos microbiológicos que contribuyen a mantener el sistema de cultivo más estable. Estos hallazgos respaldan el uso del consorcio bacteriano como una herramienta preventiva dentro de los programas de manejo sanitario para la larvicultura de *Penaeus vannamei*.

## CONCLUSIONES

El consorcio bacteriano probiótico demostró su sólida capacidad antagonista *in vitro*, presentando actividad inhibitoria frente a todos los microorganismos evaluados. Sin embargo, la respuesta inhibitoria del consorcio presentó una variación conforme al microorganismo enfrentado. Los mayores niveles de inhibición se observaron en las especies *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas sp.* y *Vibrio parahaemolyticus*. Un menor nivel de inhibición se observó en las especies *Vibrio harveyi*, *Vibrio vulnificus* y *Pseudomonas fluorescens*.

La aplicación del consorcio bacteriano evaluado en los sistemas de cultivo no generó alteraciones estadísticamente significativas en la carga bacteriana estimada en los grupos tratamiento y control, lo que indica que su incorporación no modificó las variables microbiológicas de manera significativa, apoyando la estabilidad de la comunidad microbiana del sistema de producción, con resultados equivalentes al manejo del grupo control.

La supervivencia larvaria no presentó diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. El análisis TOST indicó equivalencia entre estos dentro del margen establecido de  $\pm 5$  puntos porcentuales. Esto permite deducir que el consorcio presentó un rendimiento productivo comparable al manejo utilizado en

el grupo control, validando su uso sin comprometer los índices de productividad obtenidos normalmente dentro de este estudio.

De manera general, el desempeño técnico y biológico del consorcio bacteriano fue comparable al manejo utilizado en el grupo control, considerándose como una opción sostenible para complementar o sustituir los programas de manejo actuales de larvicultura de *P. vannamei*. Se concluye que la aplicación del consorcio bacteriano probiótico constituye una alternativa viable y segura para el manejo sanitario en la larvicultura de camarón blanco.

De esta manera, no se rechazó la hipótesis nula planteada, ya que la aplicación del consorcio no produjo diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana patógena ni en la supervivencia larvaria.

## RECOMENDACIONES

Debido a la variación en la respuesta inhibitoria del consorcio, se recomienda realizar un monitoreo microbiológico preventivo de los patógenos que presentaron menor susceptibilidad, con el fin de detectar oportunamente posibles incrementos en su presencia durante el desarrollo del cultivo y aplicar medidas de manejo sanitario en caso de ser necesario.

Se recomienda realizar ajustes de las dosis del probiótico de acuerdo a la carga bacteriana presente en el cultivo y a las condiciones de salud de las larvas durante su desarrollo.

Se recomienda realizar ensayos experimentales bajo condiciones de estrés para evaluar la efectividad de la aplicación del probiótico, permitiendo determinar el funcionamiento del consorcio en la estimulación inmunológica del hospedero.

Se recomienda realizar estudios *in vitro* orientados a identificar los metabolitos producidos por el consorcio para entender la diferenciación inhibitoria observada entre los patógenos evaluados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. (2025). *Vibrio spp.* Mapa de peligros alimentarios. <https://mapaperills.uab.cat/es/perill/vibrio-cholerae/>
- Amiin, M., Lahay, A., Putriani, R., Reza, M., Eka Putri, S., Ahmed, M., Jamal, M., & Browijoyo, M. (2023). The role of probiotics in vannamei shrimp aquaculture performance – A review. *Veterinary World*, 16(3), 638-649. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.638-649>
- Amoah, K., Huang, Q., Tan, B., Zhang, S., Chi, S., Yang, Q., Hong Yu, L., & Dong, X. (2019). Dietary supplementation of probiotic *Bacillus coagulans* ATCC 7050, improves the growth performance, intestinal morphology, microflora, immune response, and disease confrontation of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 87, 796-808. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.029](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.029)
- Anjum, M., Laitila, A., Ouwehand, A., & Forssten, S. (2022). Current Perspectives on Gastrointestinal Models to Assess Probiotic-Pathogen Interactions. *Frontiers in microbiology*, 13, 831455. [https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.831455](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.831455)
- Aquino, R. R. (2017). *Efecto de la harina de espirulina *Arthrospira platensis* como complemento alimenticio sobre el crecimiento y supervivencia de la zoea y mysis de *Litopenaeus vannamei**. Universidad Nacional de Tumbes. <https://repositorio.untumbes.edu.pe/items/ca93654f-39e3-411d-bd7a-d9a3b1909b67>

- Arana, I., Orruño, M., & Barcina, I. (2012). *Tema 2. Métodos básicos de enumeración de microorganismos*. Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología.  
[https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema\\_2.\\_Metodos\\_basicos\\_de\\_enumeracion\\_de\\_microorganismos.pdf](https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema_2._Metodos_basicos_de_enumeracion_de_microorganismos.pdf)
- Atienza, L. M. (Mayo de 2022). *Dietary supplementation of Bacillus velezensis improves Vibrio anguillarum clearance in European sea bass by activating essential innate immune mechanisms*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1050464822001589?via%3Dihub>
- Banco Central del Ecuador. (2025). *Comercio Exterior*. Banco Central del Ecuador.  
[https://contenido.bce.fin.ec/documentos/informacioneconomica/SectorExterno/ix\\_ComercioExterior.html#](https://contenido.bce.fin.ec/documentos/informacioneconomica/SectorExterno/ix_ComercioExterior.html#)
- Bang, W., Ban, O., Lee, B., Oh, S., Park, C., Park, M., Jung, K., Yang, J., & Jung, Y. (Junio de 2021). Genomic-, phenotypic-, and toxicity-based safety assessment and probiotic potency of Bacillus coagulans IDCC 1201 isolated from green malt. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 48(5-6).  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jimb/kuab026>
- Bermúdez Medranda, A., Falcones Rodríguez, J., García, M., Santana Piñeros, A., & Cruz-Quintana, Y. (30 de junio de 2024). Vibrio spp y bacterias

heterótrofas en tres laboratorios de larvas de camarón blanco *Penaeus vannamei* de Manabí, Ecuador. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, e28273.  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172024000300013](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172024000300013)

Bhassu, S., Shama, M., Tiruvayipati, S., Soo, T., Ahmed, N., & Yusoff, K. (2024). Microbes and pathogens associated with shrimps - implications and review of possible control strategies. *Frontiers in Marine Science*, 1397708.  
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11534305/>

Borehalli, S., NG, M., Alghamdi, S., Atwah, B., Alhindi, Z., & Islam, F. (2022). Role of Antimicrobial Drug in the Development of Potential Therapeutics. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2500613.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2022/2500613>

Butt, U., Lin, N., Akhter, N., Siddiqui, T., Li, S., & Wu, B. (2021). Overview of the latest developments in the role of probiotics, prebiotics and synbiotics in shrimp aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 14, 263–281.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.05.003>

Calcagnile, M., Tredici, S., & Alifano, P. (2024). A comprehensive review on probiotics and their use in aquaculture: Biological control, efficacy, and safety through the genomics and wet methods. *Heliyon*, 10(24), e40892.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40892>

Carvajal, J. Y., Bolaños Núñez, M. B., & Martínez González, E. (25 de septiembre de 2013). *Efecto de dos tipos de dietas: comercial y experimental sobre el crecimiento de camarones litopenaeus vannamei en etapa de postlarvas*.  
<http://hdl.handle.net/123456789/3107>

CHROMagar. (2021). *CHROMagar Vibrio: Instructions for use*.  
[https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/12/NT\\_EXT\\_017\\_NOTICE\\_V8.0.pdf](https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/12/NT_EXT_017_NOTICE_V8.0.pdf)

Condalab. (2021). *Agar Soja y Trypticaseína (TSA)*.  
[https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/09/1068\\_es\\_2.pdf](https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/09/1068_es_2.pdf)

Cruces, A., Juárez, E., Ortegon, A., Palao, M., Camacho, A., Camacho, N., Mina, A., & Velázquez, O. (2021). *Métodos Microbiológicos para el Análisis de Alimentos*. <https://recursos.db.uanl.mx/img/books/libro65-metodosmicrobiologicos.pdf>

Cruz, C. M. (2019). *Aislamiento y caracterización de bacterias con potencial probiótico de la microbiota intestinal del camarón blanco Litopenaeus vannamei*. <https://ru.dgb.unam.mx/server/api/core/bitstreams/b440a098-5b76-4013-99b5-5af64d5e2a48/content>

Cuéllar, J. (Agosto de 2013). *Vibriosis*. The Center for Food Security & Public Health (CFSPH). <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/vibriosis-in-shrimp-es.pdf>

Cuéllar, J., Almanza Abud, M., Margherita, A., Lightner, D., Shinozaki, E., Lemos, A., Morales Covarrubias, M., Pantoja, C., Perazzolo, L., Rosa, R.,

Saborio, A., & Vasconcelos, T. (2014). *Guía técnica - Patología e inmunología de camarones Penaeidos*. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria.

[https://doi.org/https://www.academia.edu/9828332/Gu%C3%ADa\\_T%C3%A9cnica\\_Patolog%C3%ADa\\_e\\_Inmunolog%C3%ADa\\_de\\_Camarones\\_Penaeidos\\_2da\\_edici%C3%B3n](https://doi.org/https://www.academia.edu/9828332/Gu%C3%ADa_T%C3%A9cnica_Patolog%C3%ADa_e_Inmunolog%C3%ADa_de_Camarones_Penaeidos_2da_edici%C3%B3n)

Devadas, S., Zakaria, Z., Shariff, M., Bhassu, S., Karim, M., & Ikhsan, N. (2024). Methodologies and standards for monitoring antimicrobial use and antimicrobial resistance in shrimp aquaculture. *Aquaculture*, 579(740216). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740216>

Elsegeny, S., Radwan, F., Elshamy, Y., Amer, S., Mohamed , R., Shokrak, N., & Abdella, B. (2025). A comprehensive overview of probiotics in aquaculture: from efficacy evaluation to diverse applications. *Annals of Microbiology*, 75(35). <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13213-025-01825-7>

Elsevier. (2026). *Fisher exact test*. ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com/topics/computer-science/fisher-exact-test>

Espinosa, R. E. (2016). *Análisis del sector de larviculturadel camarón blanco Litopenaeus vannamei sp. en el Ecuador; énfasis en el mercado de insumos y comportamientos del sector*. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/54170>

- FAO y OMS. (2002). *Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*.  
<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/104057a5-beeb-407c-a6f9-1ffc3859f18a/content>
- Fasulkova, R., & Stratev, D. (2024). Insights into foodborne *Vibrio parahaemolyticus* – a review. *Food research*, 8(1), 190-209.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.26656/fr.2017.8\(1\).267](https://doi.org/https://doi.org/10.26656/fr.2017.8(1).267)
- Fenucci, J. L. (Agosto de 1988). *Manual para la cría de camarones Peneidos*.  
FAO. <https://www.fao.org/4/ab466s/AB466S05.htm?>
- Golder, H., Séon, A., Santigosa, E., De Ondarza, M., & Lean, I. (2022). Effects of probiotic interventions on production efficiency, survival rate, and immune responses of shrimp: A meta-analysis and meta-regression. *Aquaculture*, 552(737973).  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737973>
- Goytortúa Bores, E., Civera Cerecedo, R., Andrade Vizcaino, K., & Cadena Roja, M. (2023). *Manual para la identificación de estadios larvales del camarón blanco del pacífico *Liopenaeus vannamei**. Repositorio Institucional CIBNOR.  
<https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/2743>
- Guerrero, A. L. (2024). *Aislamiento e identificación de las bacterias presentes en el agua de los tanques de larvicultura de camarón (*Litopenaeus vannamei*)*. <https://sired.udenar.edu.co/13174/1/65963.pdf>

- Hancz, C. (2022). Application of Probiotics for Environmentally Friendly and Sustainable Aquaculture: A Review. *Sustainability*, 14(22), 15479.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/su142215479>
- Henriquez, T., Santoro, F., Medaglini, D., Pallecchi, L., Clemente, I., Bonechi, C., Magnani, A., & Falciani, C. (2024). Analysis of the utility of a rapid vesicle isolation method for clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical microbiology*, 12(10).  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1128/spectrum.00649-24>
- Hoseinifar, S. H., Sun , Y.-Z., Wang, A., & Zhou, Z. (2018). Probiotics as Means of Diseases Control in Aquaculture, a Review of Current Knowledge and Future Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2429.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02429>
- Huang, Z., Li, X., Wang, L., & Shao, Z. (2016). Changes in the intestinal bacterial community during the growth of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 47(6).  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/are.12628>
- Hui-Goh, J., Teng-Hern, L., Woan-Fei, J., Hooi-Leng, S., Kooi-Yeong, K., Letchumanan, V., Learn-Han, L., & bey-Hing, G. (2022). Harnessing the potentialities of probiotics, prebiotics, synbiotics, paraprobiotics, and postbiotics for shrimp farming. *Reviews in Aquaculture*, 14(4), 1478-1557.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12659>

Intriago, P., Montiel, B., Valarezo, M., Romero, X., Arteaga, K., Cercado, N.,  
Burgos, M., Shinn, A., Montenegro, A., Medina, A., & Gallardo, J. (2024).  
Las Bolitas Syndrome in *Penaeus vannamei* Hatcheries in Latin America.  
*Microorganisms*, 12(6), 1186.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microorganisms12061186>

Jurado, C. A. (2024). *Aplicación de la prueba de equivalencia (TOST) para la investigación de instrumentos de medición geotécnica*. Escuela de Ingeniería civil - UNSAAC. [https://www.researchgate.net/profile/Cesar-Arbulu-2/publication/386083938\\_Aplicacion\\_de\\_la\\_prueba\\_de\\_equivalencia\\_TOST\\_para\\_la\\_investigacion\\_de\\_instrumentos\\_de\\_medicion\\_geotecnica/links/6742baf527661f7ae668b8ed/Aplicacion-de-la-prueba-de-equivalencia-TOST](https://www.researchgate.net/profile/Cesar-Arbulu-2/publication/386083938_Aplicacion_de_la_prueba_de_equivalencia_TOST_para_la_investigacion_de_instrumentos_de_medicion_geotecnica/links/6742baf527661f7ae668b8ed/Aplicacion-de-la-prueba-de-equivalencia-TOST)

Kalla Veedu, A., & Thomas, J. (2026). Probiotics and prebiotics as alternatives to antibiotics in aquaculture: a systematic and bibliometric review of antimicrobial and antioxidant mechanisms. *Frontiers in microbiology*, 17.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2026.1784036>

Khanjani, M. H. (Octubre de 2024). *Probiotics, prebiotics, and synbiotics in shrimp aquaculture: Their effects on growth performance, immune responses, and gut microbiome*. Aquaculture Reports.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352513424004502>

- Kumar, S., Rajendran, V., Kumar, S., Alavandi, S., & Vijayan, K. (2017). Zoea-2 syndrome of *Penaeus vannamei* in shrimp hatcheries. *Aquaculture*, 479, 759-767. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.022>
- Laboratorios MICROKIT. (2020). *Cetrimide-Nalidixic Pseudomonas CN Agar (Base)*. <https://www.microkit.es/fichas/CETRIMIDE-CN-AGAR.pdf>
- Li, M., Ning, P., Sun, Y., Luo, J., & Yang, J. (2022). Characteristics and Application of *Rhodopseudomonas palustris* as a Microbial Cell Factory. *Front Bioeng Biotechnol*, 10, 897003. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.897003>
- Liu, X., Li, Y., Li, J., Cai, L., Li, X., Chen, J., & Lyu, S. (2015). Isolation and characterisation of *Bacillus* spp. antagonistic to *Vibrio parahaemolyticus* for use as probiotics in aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 795-803. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11274-015-1833-2>
- Lozano, C., Pacheco, F., Gallo, A., & Castillo, D. (2025). Evaluación del efecto de bacterias probióticas comerciales en cultivos larvarios de *Penaeus vannamei*. *AquaTechnica*, 7(3), 149-163. <https://doi.org/https://doi.org/10.33936/at.v7i3.7789>
- Lund Research Ltd. (2018). *One-way ANOVA: An introduction to when you should run this test and the test hypothesis*. Laerd Statistics. <https://statistics.laerd.com/statistical-guides/one-way-anova-statistical-guide.php>

- Ma , K., Chan , T., & Chu, K. (2009). Phylogeny of penaeoid shrimps (Decapoda: Penaeoidea) inferred from nuclear protein-coding genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53(1), 45-55.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.05.019>
- Macías Barre, J., Palma Mora, M., Arteaga Chávez, F., Navarrete Álava, J., Marcillo Alcivar, Y., & Cueva Navia, T. (2023). Influencia de la actividad probiotica de *Lactiplantibacillus plantarum* en el agua de cultivo de camarones *Penaeus vannamei* Boone, 1931. *AquaTechnica*, 5(3), 207-214.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.5281/zenodo.10447327>
- Malato, G. (2025). *An Introduction to the Shapiro-Wilk Test for Normality*. Built In. <https://builtin.com/data-science/shapiro-wilk-test>
- Marcillo, F. (2010). *metodología de cultivo comercial de camarón en Ecuador. Especies: Penaeus (Litopenaeus) vannamei P. stylirostris*. Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL).  
<https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/8888>
- Mathan, M., Vickram, A., Sonwndharya, B., Saravanan, A., Kamalesh, R., & Dinakarkumar, Y. (2024). A comprehensive review on the utilization of probiotics in aquaculture towards sustainable shrimp farming. *Fish & Shellfish Immunology*, 147, 109459.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2024.109459>

MCD Lab. (2025). *TCBS Agar (Medio de Sulfato de Citrato de Bilis y Sacarosa)*.

[https://mcd.com.mx/index.php?controller=attachment&id\\_attachment=267](https://mcd.com.mx/index.php?controller=attachment&id_attachment=267)

35

Melgar Valdes, C., Barba Macías, E., Álvarez González, C., Tovilla Hernández, C., & Sánchez, A. J. (2013). Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) en cultivo intensivo. *Revista de biología tropical*, 61(3), 1115-1128.

[https://doi.org/https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442013000400018&script=sci\\_arttext](https://doi.org/https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442013000400018&script=sci_arttext)

MiMeDB. (2022). *Bacillus mojavensis*. Microbiome Metabolome Database.

<https://mimedb.org/microbes/MMDBm0730691>

Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2019). *Plan Nacional para la prevención y control de la resistencia a los antimicrobianos (RAM) 2019 - 2023*. Ministerio de Salud Pública. <https://rr-americas.woah.org/app/uploads/2023/03/app-ram-ecuador-05-10.pdf>

Nigro , O., & Steward, G. (2015). Differential specificity of selective culture media for enumeration of pathogenic vibrios: Advantages and limitations of multi-plating methods. *Journal of microbiological Methods*, 111, 24-30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.01.014>

Noman, M. (10 de Marzo de 2024). *Harnessing probiotics and prebiotics as eco-friendly solution for cleaner shrimp aquaculture production: A state of the*

*art scientific consensus.*

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004896972400055>

X

Pazmiño , B., Rodas, K., Pazmiño, R., Tapia, T., Balcázar , W., Valle, S., Salazar, S., Villalva, M., Ochoa , D., & Rodas, E. (2026). Native Bacillus-Based Probiotic Consortia Suppress *Vibrio parahaemolyticus* and Restructure Hatchery Water Microbiomes in Shrimp Larval Systems. *Pathogens*, 15(3). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pathogens15030287>

Pedrazzani, A., Cozer, N., Quintiliano, M., Tavares, C., Da Silva, U., & Ostrensky, A. (2023). Non-Invasive Methods for Assessing the Welfare of Farmed White-Leg Shrimp (*Penaeus vannamei*). *Animals*, 13(5), 807. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ani13050807>

Pereira, W., Mendonça, C. M., Villasante, A. U., Þór Marteinsson, V., Guy, J., Cotter, P., Figueroa , E., Romero, J., & Oliveira, R. (2022). Use of Probiotic Bacteria and Bacteriocins as an Alternative to Antibiotics in Aquaculture. *Microorganisms*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microorganisms10091705>

Pérez-Chabela, M., Avarez-Cisneros, Y., Soriano- Santos, J., & Pérez-Hernández, M. A. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica*, 30(1), 93105. <https://doi.org/https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2020v30n1/per>

ez

Puvanasundram, P., Chong, M., Sabri, S., Sabri, Y., & Karim, M. (2021). Multi-strain probiotics: Functions, effectiveness and formulations for aquaculture applications. *Aquaculture Reports*, 21, 100905.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100905>

Ramírez, M., Cristóbal, D., Salazar, L., Debut, A., Sonnenholzner, S., Alexis, F., & Rodríguez, J. (2022). The probiotics *Vibrio diabolus* (Ili), *Vibrio hepatarius* (P62), and *Bacillus cereus sensu stricto* (P64) colonize internal and external surfaces of *Penaeus vannamei* shrimp larvae and protect it against *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, 549.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737826>

Raza, B., Zheng, Z., Zhu, J., & Yang, W. (2024). A review: Microbes and their effect on growth performance of *Litopenaeus vannamei* (White Leg shrimps) during culture in biofloc technology system. *Microorganisms*, 12(5), 103. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12051013>

Reantaso, M., MacKinnon, B., Karunasagar, I., Fridman, S., Alday Sanz, V., Brun, E., Le Groumellec, M., Li, A., Surachetpong, W., Karunasagar, I., Hao, B., Dall'Occo, A., Urbani, R., & Caputo, A. (2023). Review of alternatives to antibiotic use in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 15(4), 1421–1451.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12786>

Reyes, G., Betancourt, I., Andrade, B., Panchana, F., Román, R., Sorroza, L., Trujillo, L., & Bayot, B. (2022). Microbiome of *Penaeus vannamei* Larvae and Potential Biomarkers Associated With High and Low Survival in

Shrimp Hatchery Tanks Affected by Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease. *Frontiers in Microbiology*, 13(838640).

<https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.838640>

Ringø, E., Harikrishnan, R., Soltani, M., & Ghosh, K. (2022). The Effect of Gut Microbiota and Probiotics on Metabolism in Fish and Shrimp. *Animals*, 12(21), 3016. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ani12213016>

Ringø, E., Van Doan, H., Lee, S., Soltani, M., Hoseinifar, S., Harikrishnan, R., & S.K., S. (2020). Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, 129(1), 116-136. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jam.14628>

Rodríguez, S., Gómez, B., & Lozano, R. (2010). ‘Bright-red’ syndrome in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* is caused by *Vibrio harveyi*. *Diseases of Aquatic Organisms*. <https://doi.org/https://www.int-res.com/articles/dao2010/92/d092p011.pdf>

Samsing, F., & Barnes, A. (2024). The rise of the opportunists: What are the drivers of the increase in infectious diseases caused by environmental and commensal bacteria? *Reviews in aquaculture*, 16(4), 1787-1797. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12922>

Su-Kyoung, K., Jaeho, S., Meora, R., Ilnam, K., In-Kwon, J., & Jang-Cheon, C. (2022). Exploring bacterioplankton communities and their temporal dynamics in the rearing water of a biofloc-based shrimp (*Litopenaeus*

vannamei) aquaculture system. *Frontiers in microbiology*, 13.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.995699>

Tamilselvan, M., & Raja, S. (Marzo de 2024). Exploring the role and mechanism of potential probiotics in mitigating the shrimp pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 103938. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103938>

Thermo Fisher Scientific. (2018). *Technical Specification: TSA + 2% Salt (PP2687)*. <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/MBD/Specification-Sheets/TSA2PercentSaltPlate-PP2687.pdf>

Thomas, A. (2024). *The Kruskal Wallis Test: A guide*. Built In. <https://builtin.com/articles/kruskal-wallis-test>

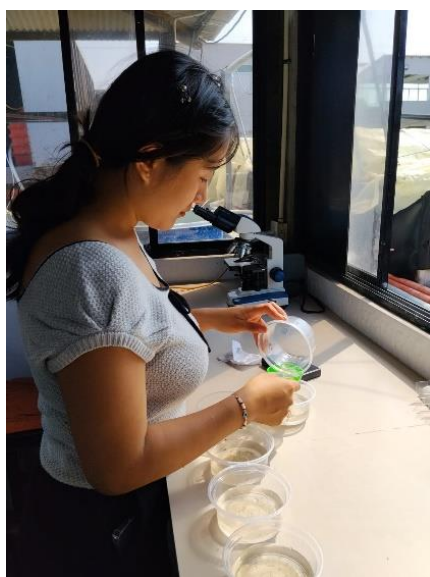
Thompson, C., Jr, W., Landuci, F., Lima, M., Bacha, L., Perazzolo, L., Marques, C., Soares, F., Pousão, P., Hanson, L., Gomez, B., Thompson, M., Varasteh, T., Silva, T., Swings, J., Zhang, X., De Souza, W., & Thompson, F. (2024). Understanding the role of microbes in health and disease of farmed aquatic organisms. *Marine Life Science & technology*, 6(4), 579-609. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s42995-024-00248-8>

Tran , L., Nunan, L., Redman, R., Mohnney, L., Pantoja, C., Fitzsimmons, K., & Lightner, D. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of aquatic organisms*, 105(1), 45-55. <https://doi.org/https://doi.org/10.3354/dao02621>

- Vega-Carranza, A., Escamilla-Montes, R., Fierro-Coronado, J., Diarte-Plata, G., Guo, X., García Gutierrez, C., & Luna Gonzáles, A. (2024). Investigating the Effect of Bacilli and Lactic Acid Bacteria on Water Quality, Growth, Survival, Immune Response, and Intestinal Microbiota of Cultured *Litopenaeus vannamei*. *Animals*, 14(18).  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ani14182676>
- Wei, J., Zhang, X., Yu, Y., Huang, H., Li, F., & Xiang, J. (2014). Comparative Transcriptomic Characterization of the Early Development in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *PloS ONE*, 9(9), e106201.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106201>
- Xiong, J. (2018). Progress in the gut microbiota in exploring shrimp disease pathogenesis and incidence. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 02(17):7343-7350. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9199-7>
- Xiong, J., Sha, H., & Chen, J. (2024). Updated roles of the gut microbiota in exploring shrimp etiology, polymicrobial pathogens, and disease incidence. *Zoological Research*, 45(4), 910-923.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2024.158>
- Yuan, Y., Li, H., Wang, K., Du, Y., & Nie, X. (2026). Beyond pure cultivation: A holistic view on construction, interaction, and application of microbial consortia. *Environmental Research*, 209(1235054).  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2025.123504>

Zhang, Z., Niu, H., Qu, Q., Wan , X., Yang , Q., Mo, Z., Tan, S., Xiang, Q., Tian, X., Yang, H., & Liu, Z. (2025). Advancements in *Lactiplantibacillus plantarum*: probiotic characteristics, gene editing technologies and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 65(29), 1-22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10408398.2024.2448562>

## ANEXOS



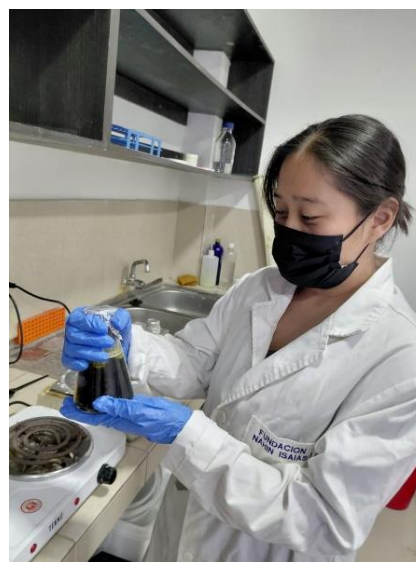
**Anexo 1.** Preparación y montaje de muestras larvianas para análisis en microscopio



**Anexo 2.** Observación microscópica de muestra de tanque tratamiento



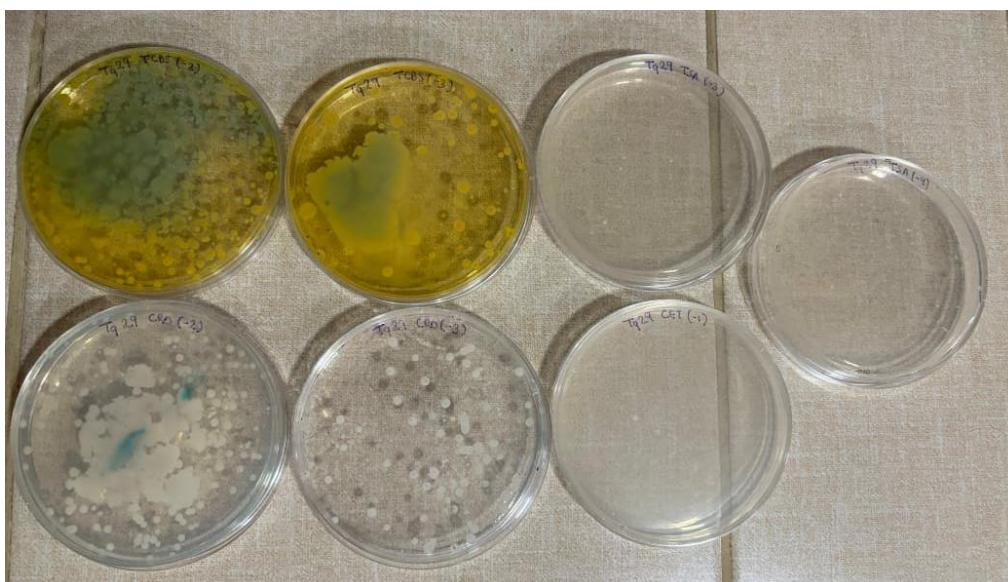
**Anexo 3.** Pesaje del medio de cultivo TCBS para su posterior preparación



**Anexo 4.** Agar preparado para someter a ebullición para su completa disolución.



**Anexo 5.** Proceso de solidificación del medio de cultivo en placas inoculadas previo a su periodo de incubación.



**Anexo 6.** Crecimiento de colonias bacterianas tras 24 h de incubación para el recuento bacteriano.



**Anexo 7.** Visita de supervisión técnica y seguimiento del desarrollo experimental por parte de tutora académica



Bernabé Briones Yuliana

ID : 15c79c2d1850fec68b75247980f9d9b201c4cca4



7%

Textos sospechosos

Nombre del fichero : Bernabé Briones Yuliana.txt  
Tamaño del archivo original : 132,92 kB  
Número de palabras : 10.341

Depositante : SONNYA PATRICIA MENDOZA LOMBANA  
Fecha de depósito : 5 de agosto de 2026  
Tipo de carga : Interfaz  
Fecha de fin de análisis : 5 de agosto de 2026

## Resumen (sección 1/3)

Localización de los textos sospechosos en el documento :



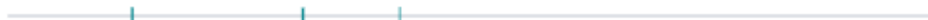
Incluido en el porcentaje de textos sospechosos :



### Similitudes

<1%

Pasajes con similitudes a fuentes encontradas en diferentes colecciones.



### Detección de IA

<1%

Textos estilísticamente próximos a un texto generado por una IA.

Este índice es un indicador y no una prueba. Comprueba con el autor si domina los conocimientos mencionados en el documento.



### Idiomas no reconocidos

6%

Pasajes en los que parte del vocabulario utilizado no forma parte del diccionario de la lengua.

Puede tratarse de un intento del autor de modificar el texto para evitar ser detectado.



No incluido en el porcentaje de textos sospechosos :



### Textos entre comillas

0%

Pasajes entre comillas, a menudo indicativos de una cita.