



**UPSE**

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

**TÍTULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

Eficacia del extracto de macro-alga *Kappaphycus alvarezii* en el control de bacterias patógenas de importancia en la industria del camarón blanco (*penaeus vannamei*).

**AUTOR:**

Christian Paúl Vásquez Valencia

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

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

**TUTOR:**

Mgs. Jorge Enrique Blacio Game

Santa Elena, Ecuador

Año 2025



**UPSE**

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

**TRIBUNAL DE GRADO**

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

---

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

---

MSc. Jorge Enrique Blacio  
**TUTOR**

---

PhD. Jorge García Regalado  
**ESPECIALISTA 1**

---

MSc. Jimmy Villón Moreno  
**ESPECIALISTA 2**

---

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



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

**CERTIFICACIÓN:**

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

Atentamente,

---

Mgs. Jorge Blacio Game  
**TUTOR**



**UPSE**

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

**DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD**

**YO, CHRISTIAN PAÚL VÁSQUEZ VALENCIA**

**DECLARO QUE:**

El trabajo de Titulación, **Eficacia del extracto de macro-alga *Kappaphycus alvarezii* en el control de bacterias patógenas de importancia en la industria del camarón blanco (*Penaeus Vannamei*)** previo a la obtención del título en Magíster en Acuicultura, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías.

Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

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

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

---

Christian Paúl Vásquez Valencia  
**AUTOR**



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

**AUTORIZACIÓN**

Yo, **CHRISTIAN PAUL VÁSQUEZ VALENCIA**

**DERECHOS DE AUTOR**

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

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

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

---

Christian Paúl Vásquez Valencia  
**AUTOR**



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

**CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO**

Certifico que después de revisar el documento final del trabajo de titulación denominado Eficacia del extracto de macro-alga *Kappaphycus Alvarezii* en el control de bacterias patógenas de importancia en la industria del camarón blanco (*Penaeus Vannamei*), presentado por el estudiante, Christian Paúl Vásquez Valencia fue enviado al Sistema Antiplagio COMPILATIO, presentando un porcentaje de similitud correspondiente al 6%, por lo que se aprueba el trabajo para que continúe con el proceso de titulación.



Mgs. Jorge Blacio Game  
**TUTOR**

## **DEDICATORIA**

A Dios mi búsqueda constante de conocimiento de alegría.

A mis padres que sacrificaron todo para que pueda llegar  
a este instante

*Christian Paúl Vásquez Valencia*

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres motor de lucha constante y que llenan mi vida de alegría

A mis colegas y amigos que me acompañaron por esta senda y llegamos hasta el final de la  
misma motivándonos constantemente.

A mi tutor Mgs. Jorge Enrique Blacio Game por tenerme paciencia y haberme guiado con  
tanto ímpetu durante todo este proceso

A la maestría en Acuicultura por permitirme soñar y llegar hasta ese punto.

A la vida por permitirme lograr este último reto

*Christian Paúl Vásquez Valencia*

# ÍNDICE GENERAL

<b>DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD</b> .....	IV
<b>AUTORIZACIÓN</b> .....	V
<b>DEDICATORIA</b> .....	VII
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	VIII
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	IX
<b>RESUMEN</b> .....	XIII
<b>ABSTRACT</b> .....	XIV
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	3
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	5
<b>4. OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS</b> .....	7
<b>4.1. Objetivo General:</b> .....	7
<b>4.2. Objetivos Específicos:</b> .....	7
<b>5. PLANTEAMIENTO HIPOTÉTICO</b> .....	8
<b>5.1. Hipótesis</b> .....	8
<b>5.2. Idea a defender</b> .....	8
<b>5.3. Preguntas científicas</b> .....	8
<b>6. MARCO TEÓRICO</b> .....	9
<b>6.1. Antecedentes</b> .....	9
<b>6.1.1. Introducción a la Acuicultura y la Industria del Camarón Blanco</b> .....	10
<b>6.1.2. Problemas Sanitarios en la Industria del Camarón Blanco</b> .....	10

6.1.3. Macro-Algas y su Aplicación en el Control de Patógenos.....	11
6.3.2. Mecanismos de Acción Antibacteriana.....	13
6.3.3. Polisacáridos Sulfatados: Carragenanos y Su Actividad Antibacteriana .....	13
6.1.4. Metabolismo y Procesos Bioquímicos Relacionados.....	14
<b>6.2. Metodología para Evaluar la Eficacia del Extracto .....</b>	<b>15</b>
6.2.1. Métodos de Extracción de Compuestos Bioactivos de <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	15
<b>7. METODOLOGÍA .....</b>	<b>17</b>
7.1. Recolección de muestras .....	17
7.2. Métodos de extracción: .....	17
7.2.1. Extracción en agua caliente.....	17
7.2.2. Extracción en Etanol y Agua.....	18
7.3. Caracterización bioquímica de las algas .....	18
7.3.1. Auxinas totales .....	18
7.3.2. Actividad antioxidante total .....	18
7.3.3. Fenoles totales .....	19
7.3.4. Pigmentos .....	19
7.3.5. Actividad antibacteriana.....	19
7.4. Análisis estadístico .....	20
<b>8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>21</b>
8.1. Resultados .....	21
8.2. Discusión .....	29
<b>9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>32</b>
9.1. Conclusiones .....	32

<b>9.2. Recomendaciones</b> .....	33
<b>10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:</b> .....	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	12
<b>Figura 2.</b> Promedio de inhibición bacteriana a las 8 horas usando <i>Kappaphycus alvarezii</i> en distintos métodos de extracción. ....	21
<b>Figura 3.</b> Promedio de inhibición bacteriana a las 24 horas usando <i>Kappaphycus alvarezii</i> en distintos métodos de extracción. ....	22
<b>Figura 4.</b> Porcentajes de la actividad antioxidante de los métodos de extracción usados en <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	23
<b>Figura 5.</b> Concentraciones de auxinas totales de los métodos de extracción usados en <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	24
<b>Figura 6.</b> Concentraciones de fenoles totales de los métodos de extracción usados en <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	25
<b>Figura 7.</b> Concentraciones de pigmentos de los métodos de extracción usados en <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	26
<b>Figura 8.</b> Análisis de componentes principales (PCA) de las concentraciones de pigmentos, auxinas, fenoles y actividad antioxidante de los métodos de extracción usados en <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	27
<b>Figura 9.</b> Dendrograma de correlación de las concentraciones de pigmentos, auxinas, fenoles y actividad antioxidante de los métodos de extracción usados en <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	28

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de *Kappaphycus alvarezii* frente a bacterias patógenas del género *Vibrio*, causantes de la vibriosis en cultivos de camarón. Se emplearon dos métodos de extracción: agua caliente y mezcla agua-etanol, analizando su efecto inhibitorio sobre *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* y *V. vulnificus*. Los resultados demostraron que el extracto agua-etanol presentó mayor eficacia, alcanzando porcentajes de inhibición superiores al 50% en 24 horas a una concentración de 15 mg/ml. Así mismo, este extracto mostró una elevada actividad antioxidante (75%) y un contenido significativo de fenoles totales, lo que confirma la presencia de metabolitos secundarios con propiedades bioactivas. Los compuestos presentes en *K. alvarezii*, podrían explicar los efectos observados, al actuar directamente sobre la integridad de las membranas bacterianas y al contribuir a la neutralización de radicales libres en el medio de cultivo. Estos hallazgos coinciden con estudios previos que señalan el potencial de las macroalgas como alternativa al uso de antibióticos en la acuicultura. En conclusión, *K. alvarezii* representa una fuente natural con capacidad para inhibir patógenos bacterianos y reducir el impacto de la vibriosis en *Penaeus vannamei*. La investigación aporta una alternativa sostenible y segura para el manejo sanitario de los cultivos de camarón, con implicaciones positivas en la reducción de la resistencia bacteriana y en la seguridad alimentaria.

**Palabras clave:** *Kappaphycus alvarezii*; métodos de extracción; *Penaeus vannamei*; vibrios

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antibacterial and antioxidant activity of *Kappaphycus alvarezii* extracts against pathogenic bacteria of the genus *Vibrio*, the causative agents of vibriosis in shrimp farming. Two extraction methods were applied: hot water and a water-ethanol mixture, assessing their inhibitory effect on *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, and *V. vulnificus*. The results showed that the water-ethanol extract exhibited greater efficacy, achieving inhibition percentages above 50% within 24 hours at a concentration of 15 mg/ml. Furthermore, this extract presented high antioxidant activity (75%) and a significant content of total phenols, confirming the presence of secondary metabolites with bioactive properties. The compounds present in *K. alvarezii* could explain the observed effects, as they act directly on the integrity of bacterial membranes and contribute to the neutralization of free radicals in the culture medium. These findings are consistent with previous studies that highlight the potential of macroalgae as an alternative to the use of antibiotics in aquaculture. In conclusion, *K. alvarezii* represents a natural source capable of inhibiting bacterial pathogens and reducing the impact of vibriosis in *Penaeus vannamei*. This research provides a sustainable and safe alternative for the health management of shrimp farming, with positive implications for reducing bacterial resistance and improving food safety.

**Keywords:** Extraction Techniques; *Kappaphycus alvarezii*; *Penaeus vannamei*, vibrios

# 1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, la industria de la acuicultura de camarones en Ecuador ha experimentado un notorio crecimiento económico, impulsado por la modernización de las técnicas de cultivo. En el año 2022, el país generó ingresos que superaron los 6 mil millones de dólares gracias a la exportación de alrededor de 2 mil millones de libras de camarón blanco, consolidándose una vez más como el líder mundial en exportaciones. China, con una participación del 56%, se destacó como su principal mercado. A pesar de estos avances, el sector camaronero enfrenta desafíos, como la amenaza de enfermedades provocadas por diversos agentes patógenos (CNA, 2022).

En este contexto, surge la necesidad de buscar alternativas naturales que reduzcan la dependencia de antibióticos sintéticos, ya que su uso indiscriminado ha favorecido la resistencia bacteriana y la contaminación ambiental. Entre los patógenos más habituales que provocan considerables pérdidas económicas, se destacan las bacterias pertenecientes al género *Vibrio*, especialmente las especies *parahaemolyticus*, *vulnificus*, *harveyi*, *alginolyticus*, *campbellii*, entre otros, estimándose solo en el año 2019 pérdidas a nivel mundial de alrededor de USD 23, 6 mil millones (Momin, 2022; Reyes, 2021). Por lo general, estas bacterias infectan a los organismos hospedantes cuando su sistema inmunológico se encuentra debilitado debido a factores externos que provocan estrés en los sistemas de cultivo. Además, son consideradas como patógenos que aprovechan la oportunidad (Newman, 2022).

Tradicionalmente, el control de estos patógenos en sistemas acuícolas se ha basado en el uso de antibióticos sintéticos. No obstante, su aplicación indiscriminada ha provocado efectos negativos, como la resistencia bacteriana, la contaminación ambiental y la alteración del equilibrio microbiano natural. Ante esta situación, surge la necesidad de desarrollar alternativas sostenibles que garanticen la salud de los cultivos y preserven la calidad ambiental de los ecosistemas costeros (Bermúdez – Almada et al., 2012).

Ante esta situación, las macroalgas marinas se presentan como una opción prometedora gracias a su diversidad bioquímica y a la presencia de compuestos secundarios con propiedades antibacterianas, antioxidantes y antiinflamatorias. Debido a esto, en los últimos 5 años, se ha observado un aumento significativo en la información científica sobre el uso de macroalgas. Se ha establecido una conexión entre su abundante bioactividad y

diversos efectos, como inmunoestimulantes (1), antivirales (2), antifúngicos (3) y propiedades citostáticas y antibacterianas (5) en todas las categorías de algas investigadas.

En particular, la macroalga *Kappaphycus alvarezii* se ha destacado como una fuente de carragenanos y metabolitos bioactivos capaces de inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Investigaciones realizadas en distintas regiones del mundo han demostrado su potencial como agente natural para el control de microorganismos patógenos en ambientes acuáticos, posicionándola como una alternativa viable al uso de productos químicos convencionales (Elias et al., 2023).

El presente estudio se orienta a evaluar la eficacia de los extractos de *Kappaphycus alvarezii* frente a bacterias del género *Vibrio* asociadas al cultivo de *Penaeus vannamei*. Se busca determinar la capacidad antibacteriana del extracto en distintas concentraciones y tiempos de exposición, con el propósito de validar su posible aplicación en la mejora de la bioseguridad de los sistemas camaroneros. Además, se pretende fortalecer el conocimiento sobre el aprovechamiento de recursos marinos locales con fines biotecnológicos, contribuyendo a la sostenibilidad ambiental y económica del sector acuícola ecuatoriano.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades bacterianas han causado pérdidas millonarias a partir de la aparición de enfermedades emergentes y reemergentes en el sector acuícola, alcanzando hasta las 2017 pérdidas económicas de 13900 millones de dólares en el mundo (Biomin, 2022).

El principal desafío que enfrenta la acuicultura en Ecuador radica en las enfermedades provocadas por bacterias (FAO,2017), las cuales han generado pérdidas sustanciales en la producción mundial, estos padecimientos producen mortalidad y una baja tasa de crecimiento, afectando a la industria del camarón (Biomin, 2022).

Los sistemas acuícolas son especialmente propensos a sufrir enfermedades causadas por agentes patógenos, situación que se agrava cuando el sistema inmunitario de los organismos cultivados se ve debilitado debido a diversas causas, como el estrés derivado de las altas densidades de cultivo, el deterioro de la calidad del agua y la variabilidad en los diferentes parámetros que se controlan en dicho entorno (Lizárraga, Montoya y Gendrop, 1997).

Además, hay bacterias que varían considerablemente su patogenicidad, y en el caso de los vibrios, estos pueden llegar a producir mortalidad y pérdidas económicas para las industrias en relación a la extracción y producción de productos del mar (Hernández, Ulloa, Vergara, Espejo y Cabello, 2005). De la misma forma, estas afecciones pueden ser transmitidas al ser humano a través del consumo de mariscos, peces y otros organismos marinos provocando enfermedades como hepatitis A, cólera y tifoidea entre otras (Foster, 1997).

Los riesgos vinculados a las terapias convencionales, como los antibióticos, involucran el incremento de la resistencia bacteriana, una tendencia en ascenso, y la persistencia de residuos en el ambiente; el desarrollo de resistencia para uno o varios antibióticos en las cepas de Vibrios es un asunto de suma importancia para el cultivo de *Penaeus vannamei* (Stalin y Srinivasan, 2016), habiéndose reportado múltiples casos en Brasil (Albuquerque, Araújo, Souza y Vieira, 2015 ), Malasia (Banerjee et al., 2012), India (Stalin y Srinivasan, 2016), Ecuador (Sotomayor et al., 2019) y Perú (Rosado, 2018).

En la actualidad algunos países, incluido Ecuador, la aplicación de ciertos antibióticos ha sido restringida en la acuicultura, para poder evitar los posibles riesgos

ambientales y afectaciones a la salud que estos suponen, tristemente, se ha evidenciado un aumento en la resistencia y peligrosidad de los microorganismos patógenos, un hecho registrado de manera extensa en países donde la producción ha experimentado un notorio desarrollo (Park et al., 2012).

Estrategias de productos profilácticos han sido los más aptos para reemplazar a los antibióticos esto ha llevado a los productores a buscar productos amigables con el ambiente y con sus sistemas de producción, entre ella existen varias opciones como aceites esenciales, terapia de fagos y probióticos se han planteado por sus resultados satisfactorios en instalaciones acuícolas y relativa seguridad (Park et al.,2012).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Los *Vibrios* en el camarón se han tratado con antibióticos como oxitetraciclina, enrofloxacina, florfenicol y, en algunas ocasiones, norfloxacina (Varela-Mejías y Alfaro-Mora, 2018; Bermúdez-Almada et al., 2014). Adicionalmente, estos medicamentos antibióticos son frecuentemente empleados de forma inapropiada, sin realizar el análisis de sensibilidad antibiótica, usándolo en cantidades excesivas y, por ende, como medida preventiva, lo que favorece el surgimiento de resistencia bacteriana (Varela y Choc Martínez, 2020, Sotomayor et al., 2019; Varela-Mejías y Alfaro-Mora, 2018).

Las macroalgas contienen compuestos bioactivos de alta capacidad como los carotenoides y polifenoles, estas moléculas tienen la capacidad de capturar radicales libres, quelar metales, aceptar y donar electrones e inactivar especies reactivas de oxígeno; sus polifenoles tienen una alta capacidad antibacteriana, vasodilatadores antioxidante y antivirales (Gaona, 2022).

Es debido a esto que, se ha buscado alternativas ambientalmente, las cuales sean responsables como los extractos del macro-alga resultan como una opción muy buena debido a que son eficaces contra las bacterias y contribuyen con la salud de los camarones, se encontró que *Kappaphycus alvarezii* ha registrado valores mayores en auxinas y fenoles totales en comparación a otras macro-algas como son *Acantophora spicifera*, *A. taxiformis* y *G. sclerophyllum* (Gaona, 2022). Además, *K. alvarezii* presenta concentraciones de inhibición bacteriana desde 24 a 36% aproximadamente para *V. parahemolyticus* y se espera obtener mayores valores.

Basándose en lo previamente mencionado, las investigaciones sobre las propiedades antimicrobianas de las macroalgas marinas ofrecen numerosas oportunidades para descubrir nuevas moléculas bioactivas, lo que plantea una alternativa al empleo de antibióticos para combatir bacterias patógenas resistentes. Esto, a su vez, asegura la seguridad alimentaria de la población (Gutiérrez et al., 2016). Desde la perspectiva ambiental, el uso de compuestos naturales extraídos de macroalgas reduce la dependencia de antibióticos y minimiza los riesgos de contaminación en los ecosistemas acuáticos. Además, fomenta el aprovechamiento sostenible de recursos marinos renovables, alineándose con las políticas de manejo responsable del litoral ecuatoriano.

Dentro de las algas que han presentado una óptima actividad antimicrobiana contra patógenos han sido *Sargassum* sp. y *Aspargopsis armata* (Vatsos y Rebours, 2014). Así mismo, de esto también se ha utilizado el extracto de macro-algas en la formulación de dietas de peces y los compuestos bioactivos del alga marina *Ulva clathrata*, la cual ha demostrado un gran nivel de eficiencia contra el *Vibrio anguillarum* (Mustafa et al., 1995).

Económicamente, la incorporación de extractos algales en el manejo sanitario de las granjas camaroneras podría representar una reducción significativa en costos de tratamientos químicos, mejorando la calidad del producto final y su aceptación en los mercados internacionales (Gutiérrez et al., 2016).

Por estas razones, la investigación se justifica como una alternativa sostenible para mejorar la productividad camaronera, fortalecer la bioseguridad acuícola y contribuir al cumplimiento de los objetivos nacionales de desarrollo sostenible.

## 4. OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

### 4.1. Objetivo General:

Evaluar los efectos inhibitorios de macroalga *Kappaphycus alvarezii* contra bacterias patógenas del camarón *Penaeus vannamei* mediante ensayos in vitro.

### 4.2. Objetivos Específicos:

- Obtener extractos de *Kappaphycus alvarezii* mediante el uso de solventes orgánicos en distintas concentraciones
- Analizar la inhibición bacteriana de las distintas concentraciones de los extractos de macroalga (*Kappaphycus alvarezii*) sobre cepas de bacterias patógenas.
- Comparar los resultados obtenidos entre las metodologías usadas de extracción para determinar la efectividad relativa de los extractos y conocer cuál es más efectiva.

## 5. PLANTEAMIENTO HIPOTÉTICO

### 5.1. Hipótesis

**Hipótesis nula (H0):** El uso de extractos de *Kappaphycus alvarezii* no produce diferencias significativas en la inhibición del crecimiento de *Vibrio spp.* a diferentes concentraciones y tiempos de exposición por medio de ensayos *in vitro*.

**Hipótesis alternativa (H1):** El uso de extractos de *Kappaphycus alvarezii* produce diferencias significativas en la inhibición del crecimiento de *Vibrio spp.* a diferentes concentraciones y tiempos de exposición.

### 5.2. Idea a defender

Los extractos del alga que presenten mayores niveles de inhibición bacteriana serán los que estén a mayores concentraciones, pudiendo superar el 36% de actividad antimicrobiana y estarán relacionados de manera directa con su tiempo de exposición por medio de ensayos *in vitro*.

### 5.3. Preguntas científicas

¿Los extractos del alga *Kappaphycus alvarezii* serán efectivos para inhibir el crecimiento de *Vibrio spp.*?

## 6. MARCO TEÓRICO

### 6.1. Antecedentes

Se han realizado diversas investigaciones dedicadas al examen de las macroalgas como fuentes de moléculas bioactivas con propiedades medicinales, capaces de estimular el sistema de defensa de los camarones. Se ha comprobado que extractos de *Padina tetrastromatica* y *Sargassum ilicifolium*, al ser probados en *P. monodon*, logran aumentar la actividad de la fenoloxidasa (PO), el anión superóxido y el recuento total de hemocitos. Este fortalecimiento del sistema inmunológico mejora la tasa de supervivencia frente a *V. parahaemolyticus* (Aftab et al., 2021).

A nivel mundial, las macroalgas del género *Kappaphycus* se han estudiado ampliamente por sus propiedades bioactivas, destacando su capacidad para inhibir microorganismos patógenos tanto en ambientes acuáticos como terrestres. Investigaciones realizadas en Asia y Latinoamérica han demostrado que los extractos obtenidos de *Kappaphycus alvarezii* poseen metabolitos como terpenoides, alcaloides, fenoles y flavonoides responsables de su efecto antibacteriano.

En Ecuador, los estudios relacionados con la aplicación de macroalgas marinas en acuicultura, son escasos, lo que refuerza la necesidad de generar conocimiento local. Según reportes previos, las especies del género *Vibrio* constituyen una de las principales amenazas sanitarias en el cultivo de camarones, generando altos índices de mortalidad. Por tanto, explorar el uso de compuestos naturales derivados de *Kappaphycus alvarezii* puede ofrecer una alternativa viable frente al uso indiscriminado de antibióticos.

En la Escuela Superior Politécnica del Litoral ubicada en Guayaquil, en el año 2021 se realizó una investigación de impacto del uso de macroalgas en el control de bacterias patógenas para el camarón (*Penaeus vannamei*) en la cual se analizó los efectos de sus extractos contra de bacterias patógenas del camarón. De igual manera, investigaciones han establecido que los niveles de inclusión de extractos de macroalgas, tanto en peces como en camarones, oscilan entre el 5% y el 10%, lo que permite mantener los beneficios sin perjudicar su desarrollo (Cruz et al., 2022).

### 6.1.1. Introducción a la Acuicultura y la Industria del Camarón Blanco

La acuicultura, conocida también como "cría de organismos acuáticos", se refiere al cultivo controlado de peces, mariscos, algas y otros organismos acuáticos en ambientes naturales o artificiales. A diferencia de la pesca tradicional, que implica capturar organismos acuáticos en su hábitat natural, la acuicultura permite gestionar el crecimiento y la producción de estos organismos bajo condiciones controladas. Esta práctica ha adquirido relevancia global en las últimas décadas debido a la creciente demanda de productos acuáticos, que son una fuente importante de proteína para la población mundial. De hecho, la acuicultura representa alrededor del 50% del suministro total de mariscos en el mundo (FAO, 2021).

En este contexto, la industria del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) ocupa un lugar prominente. Originario de las costas del Pacífico oriental, este camarón ha ganado popularidad entre los productores debido a su rápido crecimiento, alta tasa de supervivencia y capacidad de adaptarse a una variedad de condiciones ambientales. Actualmente, es una de las especies más cultivadas en acuicultura, con importantes contribuciones a la economía de países como China, Tailandia, Ecuador, y Vietnam (Lightner et al., 2012).

### 6.1.2. Problemas Sanitarios en la Industria del Camarón Blanco

Aunque la acuicultura del camarón blanco ha experimentado un crecimiento notable, enfrenta desafíos sanitarios significativos. Las enfermedades bacterianas son una de las principales amenazas para la producción de camarón, ya que pueden causar altas tasas de mortalidad, reducir el crecimiento, e incluso generar pérdidas económicas considerables. Algunas de las bacterias más comunes que afectan a esta especie incluyen *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., y *Pseudomonas* spp. Estas bacterias patógenas son responsables de infecciones como la enfermedad del síndrome de necrosis bacteriana (NHP), que puede afectar a las larvas y camarones adultos, debilitando su sistema inmunológico y reduciendo su capacidad de sobrevivir y prosperar en el ambiente de cultivo (Lightner et al., 2012).

El género *Vibrio*, ampliamente distribuido en ambientes marinos, incluye especies oportunistas que afectan a crustáceos, provocando daños en los tejidos y reduciendo la supervivencia. Estos patógenos proliferan en condiciones de alta temperatura y mala calidad del agua, por lo que su control biológico mediante extractos naturales representa una alternativa ecológica viable (Lightner et al., 2012).

### 6.1.3. Macro-Algas y su Aplicación en el Control de Patógenos

Las macro-algas son organismos fotosintéticos multicelulares que crecen en cuerpos de agua, tanto dulce como salada. A diferencia de las microalgas, que son microscópicas, las macro-algas son visibles a simple vista y se pueden clasificar en tres grupos principales: algas verdes, rojas, y pardas. Cada grupo posee características y beneficios únicos, pero todas comparten la capacidad de producir compuestos bioactivos que pueden tener propiedades antibacterianas, antioxidantes y antiinflamatorias (Wijesekara et al., 2011).

En el contexto de la acuicultura, las macro-algas han despertado interés debido a su potencial para controlar patógenos de manera sostenible. Al utilizarlas como agentes biocontroladores, se busca reducir la dependencia de productos químicos y antibióticos, que pueden generar resistencia en las bacterias y afectar negativamente al medio ambiente y a la salud humana (Shanmughapriya et al., 2008).

Cabe destacar, que las macroalgas marinas representan una de las principales fuentes de compuestos bioactivos de interés para las industrias alimentaria, farmacéutica y acuícola. Estas producen metabolitos secundarios como polifenoles, flavonoides, terpenos y polisacáridos sulfatados, entre ellos los carragenanos, que han demostrado propiedades antimicrobianas, antioxidantes e inmunoestimulantes (Wijesekara, Pangestuti y Kim, 2011). Su capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano se asocia con la alteración de la membrana celular y la interrupción de procesos metabólicos críticos en patógenos acuáticos (Chattopadhyay, Park y Tabor, 2008).

*Kappaphycus alvarezii*, en particular, es un alga ampliamente cultivada en zonas tropicales debido a su alto contenido de carragenanos. Estudios recientes han señalado que esta especie también concentra polifenoles con efecto inhibitorio frente a bacterias de importancia en salud pública y acuicultura (Tanna, Choudhary, y Mishra, 2018). Estas

características justifican la investigación de su potencial como alternativa natural a los antimicrobianos sintéticos.

#### 6.1.3.1. *Kappaphycus alvarezii*: Características y Componentes Bioactivos

*Kappaphycus alvarezii* es una macro-alga roja, originaria del sudeste asiático, particularmente apreciada en la industria debido a su rápida tasa de crecimiento y su alto contenido de carragenanos, un tipo de polisacárido sulfatado. Esta alga se cultiva principalmente en Filipinas, Indonesia, y Tanzania. Además, de los carragenanos, *Kappaphycus alvarezii* contiene otros compuestos bioactivos, como fenoles y flavonoides, que han demostrado tener propiedades antibacterianas y antioxidantes. Estas propiedades pueden ayudar a mejorar la salud del camarón y reducir la prevalencia de enfermedades en los sistemas de cultivo acuático (Matanjun et al., 2008).

**Figura 1.** *Kappaphycus alvarezii*



**Nota:** Smithsonian Tropical Research Institute, 2024

#### 6.1.3.2. Propiedades Antibacterianas de *Kappaphycus alvarezii*

El estudio de las macroalgas marinas como fuente de compuestos bioactivos ha cobrado relevancia debido a su diversidad química y a las múltiples aplicaciones en biotecnología. Los metabolitos secundarios producidos por *Kappaphycus alvarezii* actúan

como mecanismos de defensa frente a microorganismos, y muchos de ellos presentan estructuras similares a antibióticos naturales (Tanna, Choudhary & Mishra, 2018).

La extracción de compuestos antibacterianos a partir de macroalgas depende del tipo de solvente, tiempo de exposición y temperatura del proceso. El uso de solventes como etanol y metanol ha demostrado una mayor eficacia en la obtención de compuestos polares, responsables de la actividad antimicrobiana (Tanna, Choudhary & Mishra, 2018).

### 6.3.2. Mecanismos de Acción Antibacteriana

La eficacia del extracto de *Kappaphycus alvarezii* para combatir bacterias patógenas se basa en varios mecanismos de acción. Los polisacáridos sulfatados, como los carragenanos, pueden unirse a las membranas celulares de las bacterias, desestabilizándolas y alterando su permeabilidad. Esto impide que las bacterias mantengan un equilibrio iónico adecuado, provocando su muerte. Además, los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en el extracto pueden inhibir la síntesis de proteínas bacterianas, bloqueando así su capacidad de reproducirse y formar colonias (Matanjun et al., 2008).

Algunos estudios han demostrado que el extracto de *Kappaphycus alvarezii* es efectivo contra bacterias patógenas específicas como *Vibrio harveyi* y *Aeromonas hydrophila*, que son problemáticas en la acuicultura del camarón. Estos estudios sugieren que los extractos de algas pueden ser una alternativa prometedora a los antibióticos tradicionales, que muchas veces provocan resistencia bacteriana y dejan residuos en el medio ambiente (Shanmughapriya et al., 2008).

### 6.3.3. Polisacáridos Sulfatados: Carragenanos y Su Actividad Antibacteriana

Los carragenanos son polisacáridos sulfatados extraídos principalmente de macroalgas rojas, como *Kappaphycus alvarezii*. Estos compuestos tienen una estructura química única que les permite interactuar con las células bacterianas. Los carragenanos pueden alterar la carga eléctrica de la superficie bacteriana, haciendo que las bacterias se aglutinen y pierdan su capacidad de movilidad y colonización. Además, al formar una película

protectora en las superficies de los camarones y en el medio ambiente acuático, los carragenanos pueden bloquear la adherencia bacteriana y dificultar la comunicación celular bacteriana, un proceso conocido como "quorum sensing", que es crucial para la formación de biopelículas (Chattopadhyay, Park y Tabor, 2008).

#### 6.1.4. Metabolismo y Procesos Bioquímicos Relacionados

##### 6.1.4.1. Interacciones entre los Componentes de *Kappaphycus alvarezii* y Bacterias

###### *Patógenas*

Los compuestos bioactivos de *Kappaphycus alvarezii*, como los polisacáridos sulfatados y los compuestos fenólicos, interactúan directamente con las bacterias patógenas en varios niveles. Por ejemplo, los polisacáridos pueden unirse a las proteínas de la superficie bacteriana, interrumpiendo funciones esenciales como la respiración y la síntesis de ATP (la principal fuente de energía de la célula). Este efecto puede llevar a la lisis (desintegración) de la célula bacteriana, resultando en su eliminación del sistema acuático (Sasidharan et al., 2011).

Además, los compuestos fenólicos presentes en *Kappaphycus alvarezii* actúan como potentes antioxidantes, neutralizando los radicales libres generados por las bacterias. Esto no solo protege al camarón de los daños oxidativos, sino que también inhibe la capacidad de las bacterias de causar daño al tejido del huésped, lo que resulta en una reducción de la mortalidad del camarón en entornos de cultivo (Matanjan et al., 2008).

##### 6.1.4.2. Cambios Bioquímicos en el Medio Ambiente Acuático

La aplicación del extracto de *Kappaphycus alvarezii* no solo afecta directamente a las bacterias patógenas, sino que también provoca cambios en el ambiente acuático que dificultan el crecimiento bacteriano. Por ejemplo, la liberación de polisacáridos y otros compuestos puede alterar el pH del agua, creando un entorno menos favorable para la proliferación de bacterias patógenas. Además, algunos componentes del extracto de alga pueden influir en los niveles de oxígeno disuelto en el agua, mejorando las condiciones para el crecimiento del camarón y reduciendo la disponibilidad de recursos para las bacterias (Ganesan et al., 2011).

#### 6.1.4.3. Alternativas naturales en acuicultura

El interés por alternativas a los antibióticos ha impulsado la evaluación de probióticos, prebióticos, extractos vegetales y compuestos derivados de algas. Estos recursos no solo actúan como agentes antimicrobianos, sino que también fortalecen la respuesta inmunológica de los organismos cultivados y mejoran la calidad del agua en los sistemas de producción (Matanjun et al., 2008; Shanmughapriya et al., 2008).

Los extractos de macroalgas son particularmente atractivos porque combinan propiedades antioxidantes y antibacterianas, creando un ambiente menos favorable para el desarrollo de patógenos y reduciendo el estrés oxidativo en los camarones (Hende et al., 2012). El uso de solventes como etanol o mezclas agua-etanol ha demostrado liberar mayores cantidades de compuestos bioactivos en comparación con la extracción en agua caliente, lo que incrementa su eficacia (Tanna et al., 2018).

La aplicación de estos extractos en la acuicultura se enmarca en el concepto de acuicultura sostenible, que busca equilibrar la productividad con el cuidado ambiental y la seguridad alimentaria. El presente estudio, al enfocarse en *Kappaphycus alvarezii*, contribuye a este campo al evaluar su potencial como alternativa viable para el control de vibriones en el cultivo de *Penaeus vannamei*.

## 6.2. Metodología para Evaluar la Eficacia del Extracto

### 6.2.1. Métodos de Extracción de Compuestos Bioactivos de *Kappaphycus alvarezii*

La eficacia de los compuestos bioactivos presentes en las macroalgas depende en gran medida del método de extracción utilizado. En el caso de *Kappaphycus alvarezii*, se han empleado diversas técnicas convencionales y modernas con el propósito de obtener metabolitos secundarios como carragenanos, fenoles, flavonoides y auxinas, los cuales poseen propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Tanna et al., 2018).

El método de extracción en agua caliente es uno de los más empleados a nivel industrial debido a su bajo costo y facilidad de aplicación. Este procedimiento permite liberar polisacáridos sulfatados como los carragenanos, ampliamente utilizados en la industria

alimentaria y farmacéutica (Matanjan et al., 2008). Sin embargo, este método puede ser limitado en la recuperación de compuestos termo-sensibles, lo que reduce su eficacia para obtener metabolitos de alta actividad antioxidante (Shanmughapriya et al., 2008).

Por otro lado, la extracción con solventes orgánicos, particularmente etanol y metanol, ha demostrado ser más eficiente en la obtención de polifenoles y flavonoides. Estos compuestos han sido asociados con la capacidad antibacteriana frente a especies del género *Vibrio*, ya que interfieren en la integridad de la membrana bacteriana y en la producción de biopelículas (Chattopadhyay, Park y Tabor, 2008).

En este sentido, estudios como los de Hende et al. (2012) señalan que la combinación de agua con etanol favorece la solubilidad de una mayor gama de metabolitos, incrementando la bioactividad de los extractos en comparación con la extracción únicamente en agua.

De igual manera, se ha documentado que el método de extracción influye directamente en el contenido de fenoles totales, los cuales son responsables de una alta capacidad antioxidante. Tanna, Choudhary y Mishra (2018) reportaron que *K. alvarezii* extraído con solventes hidroalcohólicos presentó valores superiores de polifenoles respecto a los obtenidos mediante extracción acuosa, lo que refuerza la importancia de seleccionar técnicas que maximicen el rendimiento de compuestos bioactivos.

Finalmente, en el contexto de los cultivos de camarón, la optimización de estos métodos de extracción es fundamental, ya que determina no solo la concentración de compuestos con efecto antimicrobiano, sino también la seguridad y aplicabilidad del extracto en sistemas de cultivo. Investigaciones recientes han destacado que la elección adecuada del solvente y las condiciones de extracción (temperatura, tiempo y proporción de solvente) pueden potenciar el efecto inhibitorio de las macroalgas frente a patógenos acuáticos, contribuyendo a la reducción del uso de antibióticos (Gaona, 2022).

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1. Recolección de muestras

El alga se colectó directamente de las líneas de cultivo suspendido de la comuna de Santa Rosa en Salinas (cultivo en producción de *Kappaphycus alvarezii*).

En estudios preliminares esta macroalga ha mostrado concentraciones prometedoras de ciertos biocompuestos (Auxinas, antioxidantes y pigmentos como ficoeritrina) (Ruano, 2024).

Las macroalgas fueron transportadas en coolers dentro de fundas herméticas a una temperatura de 8 a 10 °C. Una vez en el laboratorio las macroalgas serán lavadas con agua de mar filtrada y serán retiradas todas las especies no deseadas de macroalgas, epifitas y restos de arena.

### 7.2. Métodos de extracción:

Las algas se lavaron con agua destilada y se secaron a temperatura ambiente durante 72 horas. Posteriormente, se trituraron hasta obtener un polvo fino.

#### 7.2.1. Extracción en agua caliente

Para la preparación del extracto crudo de *Kappaphycus alvarezii* se utilizó el método de extracción con agua caliente descrito por Miranda et al. (2010):

- El material (10g de biomasa en 200ml de agua destilada) se filtra con una malla de nylon (60µm).
- Luego, se concentra a presión reducida, centrifugándose a 2,5G por 20 minutos para separar el sobrenadante de sedimentos.
- Después, los tubos son cubiertos con papel aluminio para evitar la degradación de compuestos y se almacenaron en frío hasta -80°C para su posterior uso.
- Para el análisis de actividad antimicrobiana y caracterización bioquímica se toma alícuotas del sobrenadante previamente obtenido. Cabe mencionar que también se obtiene extracto de alga sin moler con el mismo procedimiento antes mencionado.

### 7.2.2. Extracción en Etanol y Agua

Para extraer los biocompuestos de 10 g de biomasa *Kappaphycus alvarezii* se usó una mezcla de etanol absoluto y agua en relación 1:1 (McCauley, Jones y Jacobsen, 2009), se molieron las algas frescas, posteriormente se utilizaron 10 gr de la muestra con 5 ml de etanol absoluto y agua destilada a temperatura ambiente, primero se añade los 5ml de etanol absoluto, para dejar reposar por 24h en el refrigerador, luego se añade los 5ml de agua destilada dejando reposar 24h de igual manera en el refrigerador. El extracto se centrifuga a 2.5 G durante 20 min (Kokusan, H-103N, Japón). El alcohol de los extractos se evapora al ambiente antes de proceder a realizar las pruebas. Los tubos fueron cubiertos con papel aluminio para evitar la degradación de compuestos, finalmente el extracto se congeló a 80 °C. Para su análisis de actividad antimicrobiana y caracterización bioquímica se toma alícuotas del sobrenadante previamente obtenido (Hende, Vervaeren y Boom, 2012).

### 7.3. Caracterización bioquímica de las algas

Se tomó alícuotas de cada extracto correspondiente al volumen que se necesita para cada preparación según el procedimiento a realizar en cada una de las pruebas de un laboratorio en su metodología interna (Auxinas totales, Antioxidantes, pigmentos, Fenoles totales):

#### 7.3.1. Auxinas totales

El sobrenadante se analizó para el contenido de auxinas utilizando el método colorimétrico de Salkowski propuesto por Glickmann y Dessaux (1995), es decir, se identifica los esteroides y triterpenos, mediante la oxidación de compuestos indólicos por sales férricas dando positiva cuando presenta una coloración que va desde el rosado claro a intenso, esta va a depender de la concentración del ácido indol acético presente (Rojas et al., 2012).

#### 7.3.2. Actividad antioxidante total

Los distintos extractos de *Kappaphycus alvarezii* fueron analizados para determinar la actividad antioxidante, utilizando el método de captura radical DPPH. propuesto por

Murray, Rodríguez, Frontera, Tomas y Mulet (2004), donde, se prepara el Reactivo DPPH al 0,004% p/v, se toma una alícuota de 200 µl de los extractos y se añade 3000 µl de reactivo DPPH en un tubo de ensayo, de esta preparación se toma 200 µl para colocar en la placa microelisa, se realizan 3 réplicas de cada extracto. Se espera por 30 minutos en oscuridad hasta obtener la reacción (cubierta de aluminio) se lee en el Varioskan Lux (Thermo Fisher Scientific, VL0000D0, US) a 517nm.

### 7.3.3. Fenoles totales

Los fenoles totales se determinaron de cada muestra de extractos en base al método espectrofotométrico basado en Tanna, Choudhary y Mishra (2018), los cuales indican que se debe de tomar una alícuota de 20 µl del extracto, se coloca en tubo de ensayo y se le adiciona 1580 µl de agua destilada luego 100 µl del reactivo Folin-Ciocalteu, mezclar bien esperando entre 30s y 8 min, para adicionar 300 µl de una solución de carbonato de sodio al 20% p/v y agitar bien. Se espera 2 h a una temperatura de 20 °C, una vez termina la reacción se toma 200 µl se coloca en los pocillos con 3 réplicas cada extracto.

### 7.3.4. Pigmentos

Para medir el contenido total de clorofila a (Chla), y carotenoides totales, de cada uno de los extractos del alga, el método a utilizar es descrito por Lightner et al. (2012), en el cual se utiliza una alícuota de 200 µl de cada extracto colocándola en una placa microelisa con 2 réplicas para cada extracto, estas son leídas a longitudes de ondas dependiendo del pigmento, posteriormente se oxida la clorofila para obtener la ficocianina adicionando 1 µl de HCL al 0,01 N y mezclándolo con el extracto para ser leído (Hende, 2012).

### 7.3.5. Actividad antibacteriana

Los distintos extractos de la especie de macroalga *Kappaphycus alvarezii* se probaron contra cepas provenientes del laboratorio de microbiología, patógenas para camarones: *V. parahaemolyticus* (BA55) causante AHPND, *V. harveyi* (E22), *V. vulnificus*.

Para el análisis de actividad antimicrobiana se probaron 3 concentraciones de extractos (5, 10 y 15 mg/ml) los cuales serán contrastados contra las 3 especies de vibrios patógenos de camarón.

Para estandarizar las concentraciones del extracto, se prepararon diluciones en base a la masa de extracto seco reconstituido en volumen conocido de medio estéril.

Se utilizó la siguiente fórmula general:  $C1 \times V1 = C2 \times V2$

C1 = concentración del extracto stock (mg/mL)

V1 = volumen a tomar del stock (mL)

C2 = concentración final deseada (mg/mL)

V2 = volumen final de la dilución (mL)

El extracto liofilizado se reconstituyó inicialmente en 1 mL de agua destilada estéril, resultando en un stock concentrado de 100 mg/mL (concentración estándar usada en microensayos según CLSI, 2018). Luego, se usaron placas de micro-ELISA para los análisis de 8 y 24 h mediante la revisión de la densidad óptica a 620 nm en el equipo Varioskan Lux. El porcentaje de inhibición fue calculado mediante la siguiente fórmula:

$$\%Inhibición = \frac{100 \times (DO620 \text{ bac. totales} - DO620 \text{ medio}) - (DO620 \text{ muestra en prueba} - DO620 \text{ muestra en agua})}{(DO620 \text{ bac. totales} - DO620 \text{ blanco})}$$

#### 7.4. Análisis estadístico

Después de obtenido todos los datos se determinó la Normalidad de los mismos usando la prueba de Anderson - Darling, posteriormente se calculó la homogeneidad de los datos a través de una Prueba de Levene. Finalmente, se conoció la varianza de los mismos mediante ANOVA de 1 vía ( $p < 0,05$ ) y un test posterior de Tukey.

Luego, se determinó la correlación de todas las variables y los resultados arrojados de las pruebas realizadas en los distintos tratamientos a través de un análisis de componentes principales (PCA) junto a un dendrograma de similitudes.

Todos los datos fueron analizados usando el programa MINITAB 19.

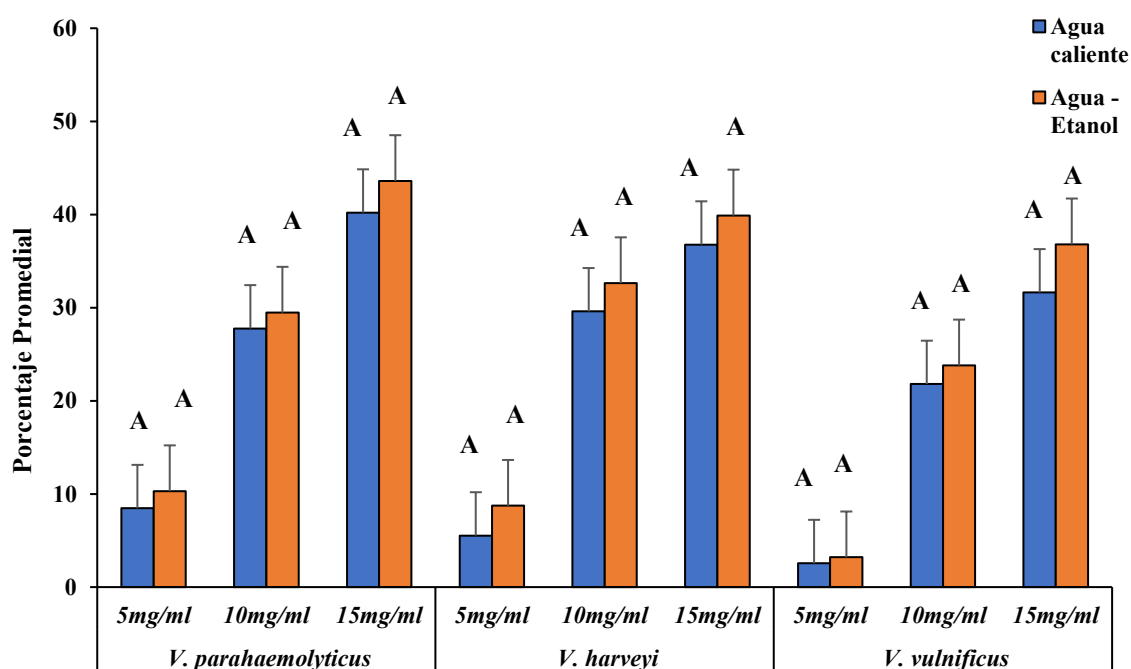
## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1. Resultados

Para la inhibición del crecimiento bacteriano se usaron los extractos con agua caliente y agua - etanol de la macroalga *Kappaphicus alvarezzi* sobre el *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. harveyi*. Los extractos se colocaron a distintas concentraciones (5, 10 y 15 mg/ml), resultando en 15mg/ml como más concentrada y en 5 mg/ml la menos concentrada de cada extracto durante las primeras 8 horas. Cabe mencionar, que no existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ) (Figura 2).

**Figura 2.** Promedio de inhibición bacteriana a las 8 horas usando *Kappaphicus alvarezzi* en distintos métodos de extracción.

Método de Extracción	<i>V. parahaemolyticus</i>			<i>V. harveyi</i>			<i>V. vulnificus</i>		
	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml
Agua caliente	8,47	27,77	40,20	5,53	29,60	36,77	2,57	21,80	31,63
Agua - Etanol	10,30	29,47	43,60	8,73	32,63	39,90	3,20	23,80	36,80



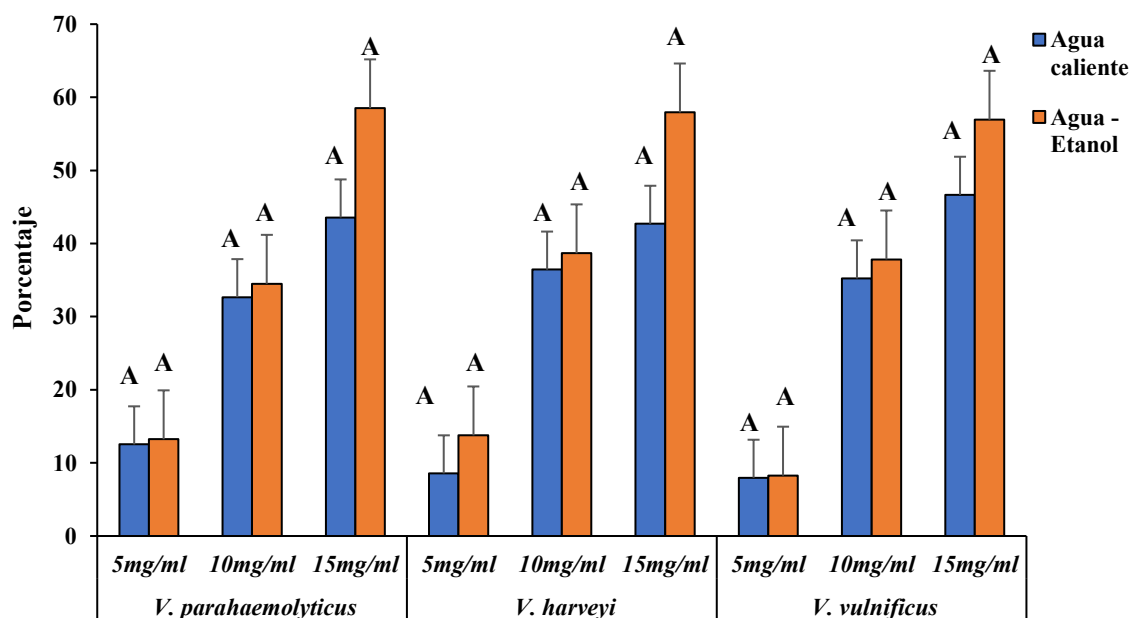
**Nota:** Letras iguales indican que no existe diferencias significativas entre los datos según Anova de 1 vía, test posterior de Tukey ( $p<0,05$ )

En la Figura 2, se puede evidenciar los promedios del efecto de inhibición temprana de la macroalga utilizada *Kappaphicus alvarezzi* en cada método de extracción, siendo la de mayor inhibición en *V. parahaemolyticus* en agua - etanol (43,6 %) en 15 mg/ml, seguido de *V. harveyi* (39,9 %) para la misma concentración. Así mismo, en agua caliente, para *V. harveyi* y *V. vulnificus* en concentración de 15 mg/ml resultó en mayor inhibición con 36,9

% y 31,5 % respectivamente. Estas observaciones dejan en evidencia la actividad antibacteriana diferenciada que tienen las concentraciones y el efecto de las concentraciones según el método de extracción de manera temprana, con efectos altos entre 80-60 en las primeras 8 horas de exposición a los extractos para todas las especies de vibrios probados y analizados.

**Figura 3.** Promedio de inhibición bacteriana a las 24 horas usando *Kappaphicus alvarezzi* en distintos métodos de extracción.

Método de Extracción	<i>V. parahaemolyticus</i>			<i>V. harveyi</i>			<i>V. vulnificus</i>		
	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml	5mg/ml	10mg/ml	15mg/ml
Agua caliente	12,53	32,67	43,57	8,57	36,43	42,70	7,97	35,23	46,67
Agua - Etanol	13,23	34,50	58,50	13,77	38,67	57,93	8,27	37,83	56,93



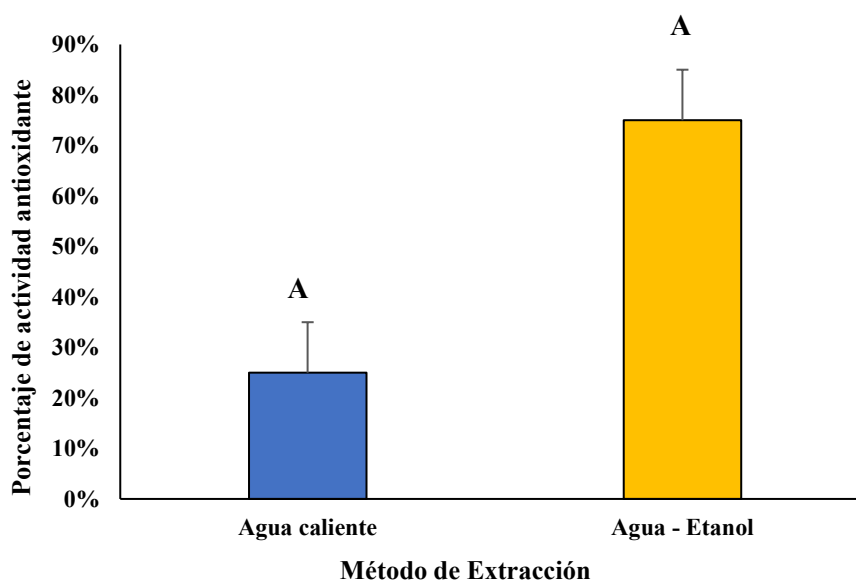
**Nota:** Letras iguales indican que no existe diferencias significativas entre los datos según Anova de 1 vía, test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

En la Figura 3, se observa los promedios del efecto de inhibición de *Kappaphicus alvarezzi* a las 24 horas, resultando los mayores efectos para la concentración de 15mg/ml en agua – etanol en 58,5 %, 57,9 % y 56,9 % respectivamente en las especies de vibrios (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* y *V. vulnificus*) analizados, tal como sucedió en las primeras horas del experimento. Cabe indicar, que no hubo diferencias significativas entre ellos ( $p > 0,05$ ).

## Actividad antioxidante

La actividad antioxidante fue medida en base a su porcentaje de inhibición cuando es medida en base al estándar de trolox. El extracto de agua – etanol de *Kappaphicus alvarezzi* presentó mayor porcentaje de actividad antioxidante en un 79 % (Figura 4). No hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ).

**Figura 4.** Porcentajes de la actividad antioxidante de los métodos de extracción usados en *Kappaphicus alvarezzi*

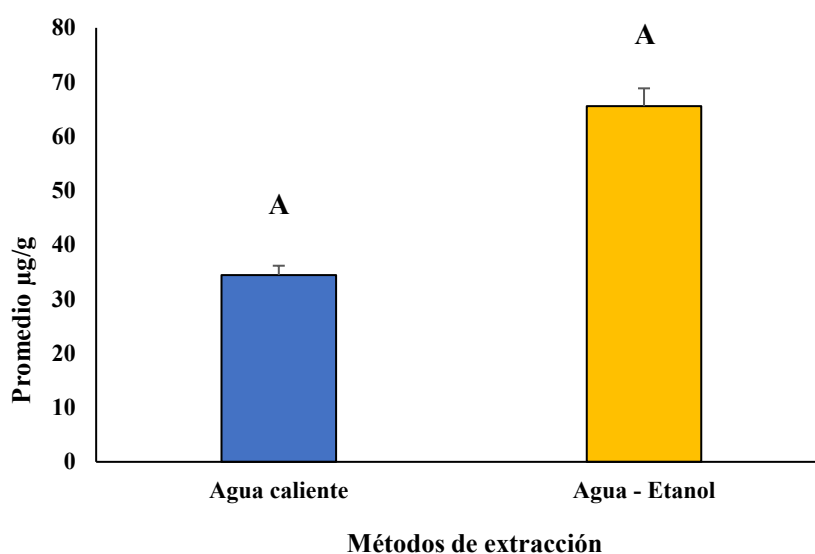


**Nota:** Letras iguales indican que no existe diferencias significativas entre los datos según Anova de 1 vía, test posterior de Tukey ( $p<0,05$ )

## Concentraciones de Auxinas

La mayor concentración de auxinas de *Kappaphicus alvarezzi* se obtuvo en agua – etanol con una concentración de 70  $\mu\text{g/g}$  (Figura 5). En agua caliente fue menor con 34,43  $\mu\text{g/g}$ . Cabe indicar, no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ).

**Figura 5.** Concentraciones de auxinas totales de los métodos de extracción usados en *Kappaphicus alvarezzi*

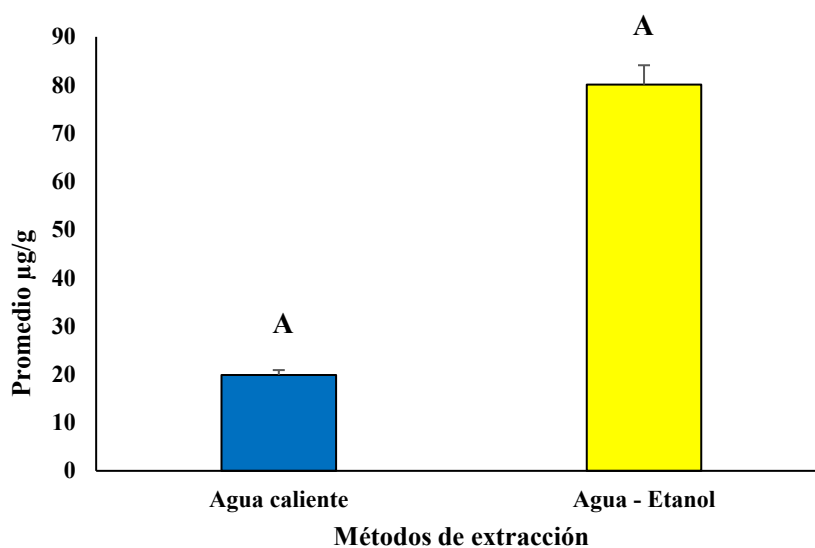


**Nota:** Letras iguales indican que no existe diferencias significativas entre los datos según Anova de 1 vía, test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

### **Concentraciones de Fenoles Totales**

La mayor concentración de fenoles totales de *Kappaphicus alvarezzi* se obtuvo en agua – etanol con una concentración de 85 µg/g (Figura 6), a diferencia de la extracción usando agua caliente fue menor con 19,9 µg/g. Cabe mencionar, no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**Figura 6.** Concentraciones de fenoles totales de los métodos de extracción usados en *Kappaphicus alvarezzi*

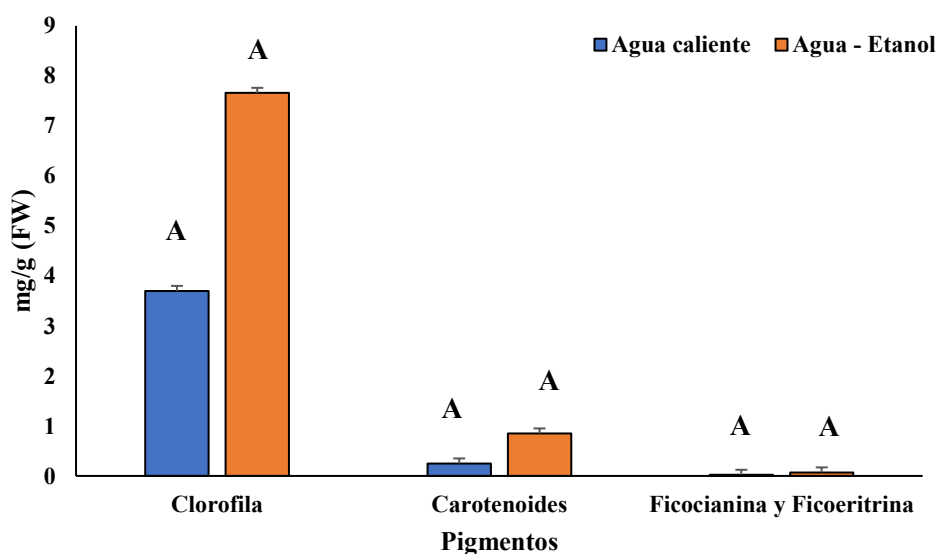


**Nota:** Letras iguales indican que no existe diferencias significativas entre los datos según Anova de 1 vía, test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

## Pigmentos

En cada método de extracción se determinaron los pigmentos del alga *Kappaphicus alvarezzi*, resultando que en agua con etanol se presentaron los niveles más altos de pigmentos medidos, siendo clorofila 8 mg/g, carotenoides 1 mg/g y Ficocianina y Ficoeritrina 0,09 mg/g respectivamente (Figura 7). No existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

Figura 7. Concentraciones de pigmentos de los métodos de extracción usados en *Kappaphycus alvarezii*



Nota: Letras iguales indican que no existe diferencias significativas entre los datos según Anova de 1 vía, test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

### Análisis de Componentes Principales

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para determinar si existe correlación entre las variables estudiadas.

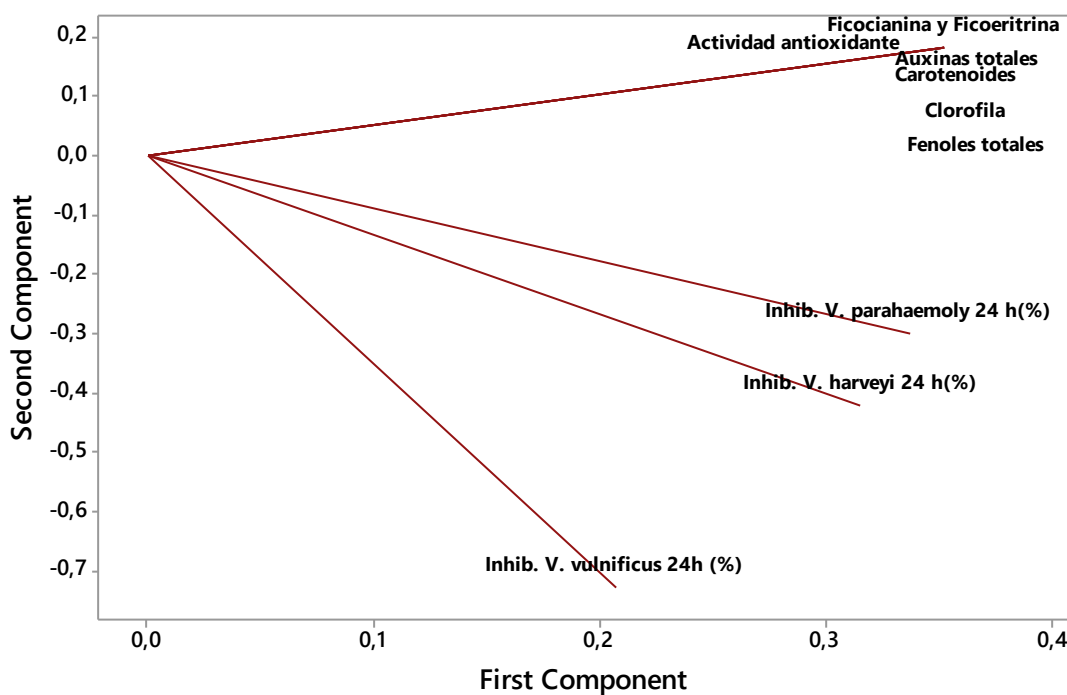
La gráfica muestra una correlación alta entre los fenoles totales ( $p = 0,619$ ) y la actividad antioxidante, así como con la clorofila ( $p = 0,538$ ), indicando una asociación fuerte entre las variables, es decir que los nombrados contribuye de manera conjunta a la actividad activa de *Kappaphycus alvarezii*, reforzando tanto la inhibición bacteriana como la capacidad antioxidante. Además, se demuestra que la actividad bioactiva de *K. alvarezii* está fuertemente determinada por los fenoles, pigmentos y auxinas, y que la inhibición bacteriana depende tanto de la concentración de estos compuestos como de la susceptibilidad de cada especie de *Vibrio* (Figura 8).

**Figura 8.** Análisis de componentes principales (PCA) de las concentraciones de pigmentos, auxinas, fenoles y actividad antioxidante de los métodos de extracción usados en *Kappaphycus alvarezzi*

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
Inhib. <i>V. parahaemoly</i> 24 h (%)	0,337	-0,302	-0,489	0,221	-0,032	-0,428	0,128	-0,500
Inhib. <i>V. harveyi</i> 24 h (%)	0,315	-0,423	-0,532	-0,196	0,028	0,380	-0,114	0,444
Inhib. <i>V. vulnificus</i> 24h (%)	0,207	-0,729	0,652	0,012	-0,002	-0,023	0,007	-0,027
Actividad antioxidante	0,352	0,182	0,094	-0,014	0,394	-0,650	-0,139	0,381
Auxinas totales	0,352	0,182	0,094	-0,370	0,052	0,200	-0,509	-0,565
Fenoles totales	0,352	0,182	0,094	0,619	-0,073	0,227	-0,458	0,187
Clorofila	0,352	0,182	0,094	0,152	0,538	0,391	0,591	-0,132
Carotenoides	0,352	0,182	0,094	-0,587	-0,193	-0,065	0,168	0,185
Ficocianina y Ficoeritrina	0,352	0,182	0,094	0,158	-0,712	-0,021	0,323	0,041

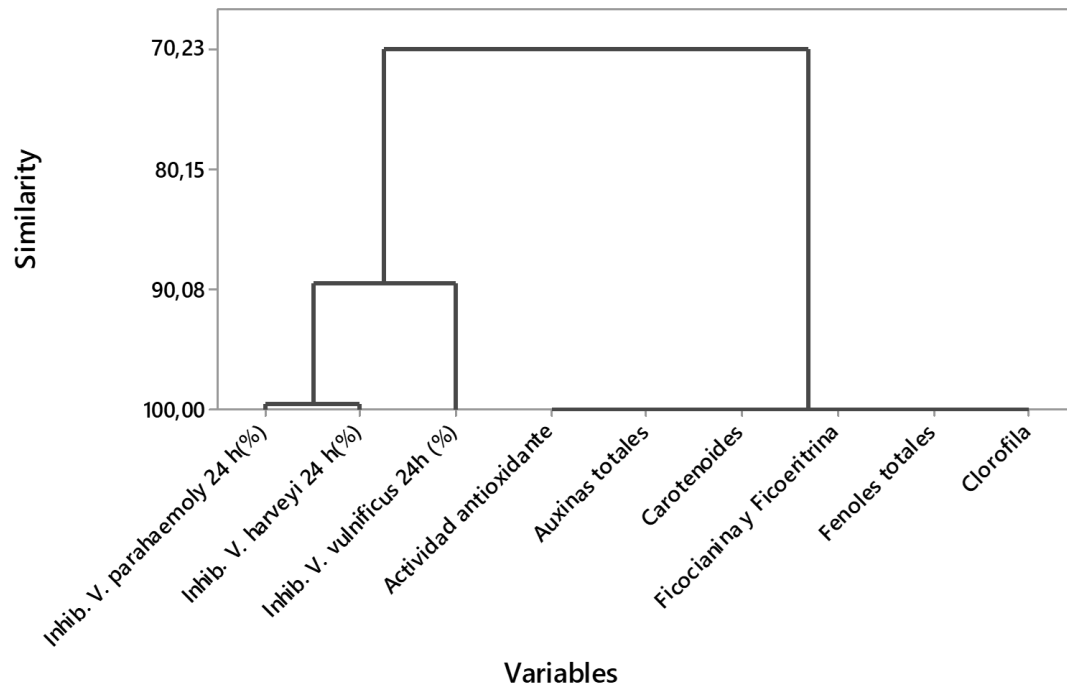
Variable	PC9
Inhib. <i>V. parahaemoly</i> 24 h (%)	-0,239
Inhib. <i>V. harveyi</i> 24 h (%)	0,212
Inhib. <i>V. vulnificus</i> 24h (%)	-0,013
Actividad antioxidante	0,301
Auxinas totales	0,275
Fenoles totales	-0,387
Clorofila	0,036
Carotenoides	-0,621
Ficocianina y Ficoeritrina	0,441



También, se realizó un dendrograma para verificar lo anteriormente mencionado, pudiéndose destacar que existe un alto grado de similitud (100 %) entre las inhibiciones de *Vibrios*. Esto confirma lo ya identificado en el PCA, es decir, ambas especies bacterianas presentan una respuesta similar a los compuestos del extracto, probablemente debido a semejanzas estructurales en su membrana externa y mecanismos de sensibilidad frente a los metabolitos fenólicos y pigmentos. Así mismo, existió un alto grado de semejanza (100 %) entre las auxinas, antioxidantes, pigmentos y fenoles, indicando que estos metabolitos

contribuyen conjuntamente al efecto antibacteriano y antioxidante observado y ya mencionado (Figura 9).

**Figura 9.** Dendrograma de correlación de las concentraciones de pigmentos, auxinas, fenoles y actividad antioxidante de los métodos de extracción usados en *Kappaphicus alvarezzi*



## 8.2. Discusión

Los resultados obtenidos evidencian que los extractos de *Kappaphycus alvarezii* presentan un efecto antibacteriano significativo frente a las cepas de *Vibrio spp.*, lo que demuestra su potencial como agente natural en la prevención de enfermedades acuícolas. Se observó que la actividad antibacteriana se incrementó de forma proporcional con la concentración del extracto y el tiempo de exposición, reflejando una relación directa entre las variables estudiadas.

El incremento de la inhibición a las 24 horas respecto a las 8 horas sugiere que el tiempo de contacto favorece la difusión de los compuestos activos hacia el medio, prolongando su acción antibacteriana. Esto concuerda con lo descrito por Bhuyar<sup>1</sup> et al. (2020), quienes sostienen que la eficacia de los extractos naturales depende del tiempo de exposición, ya que los metabolitos requieren un periodo suficiente para interactuar con las proteínas y lípidos de las membranas celulares.

En comparación con otras macroalgas, *Kappaphycus alvarezii* mostró resultados superiores a los obtenidos con especies como *Gracilaria corticata* y *Sargassum wightii*, las cuales presentan actividad antimicrobiana, pero con menor estabilidad en las concentraciones bajas. Este comportamiento reafirma la potencialidad de *Kappaphycus alvarezii* como fuente de compuestos con propiedades biotecnológicas relevantes para la acuicultura (Gaona, 2022). Aunque, los valores alcanzados en este estudio fueron menores, es importante destacar que el efecto inhibitorio de *K. alvarezii* estuvo acompañado por una alta actividad antioxidante (75%) y concentraciones relevantes de fenoles totales y auxinas, lo cual sugiere un efecto combinado entre la acción antibacteriana y el fortalecimiento del sistema inmunológico del camarón.

Además de su actividad antibacteriana, los extractos de *Kappaphycus alvarezii* demostraron contener pigmentos y compuestos antioxidantes que podrían contribuir al fortalecimiento del sistema inmune de los organismos acuáticos, reduciendo el estrés oxidativo y favoreciendo su crecimiento. Estas propiedades complementarias amplían las posibilidades de uso de la macroalga no solo como agente antimicrobiano, sino también como suplemento funcional dentro de programas de manejo sanitario sostenible.

La presencia de compuestos como fenoles totales y auxinas en *Kappaphycus alvarezii* podría explicar los resultados obtenidos, ya que estos metabolitos secundarios han demostrado alterar la permeabilidad de las membranas bacterianas, inhibir la síntesis

proteica y bloquear la formación de biopelículas (Wijsekara et al., 2011; Chattopadhyay, Park y Tabor, 2008). El extracto en agua-etanol fue superior al de agua caliente en casi todas las pruebas, lo cual coincide con lo señalado por Hende et al. (2012), quienes resaltan que la combinación de solventes puede liberar una mayor cantidad de metabolitos bioactivos en comparación con la extracción tradicional en agua.

La correlación media de la inhibición de los *Vibrios* con los metabolitos sugiere que estas especies responden principalmente a los compuestos fenólicos y a los pigmentos, lo que coincide con lo reportado en EL documento sobre la capacidad de los extractos de macroalgas para alterar la permeabilidad de membranas bacterianas y limitar la formación de biopelículas. Esto concuerda con lo señalado por Gaona (2022), quien evidenció que diferentes especies de *Vibrio* presentan sensibilidades variables a los extractos de macroalgas. Este hallazgo es relevante para la acuicultura, ya que resalta que la eficacia de un extracto puede depender de la especie patógena predominante en el cultivo.

El papel de los pigmentos también es clave. La correlación entre los metabolitos confirma que no solo cumplen funciones fotosintéticas, sino que actúan como antioxidantes potentes, reduciendo el estrés oxidativo y mejorando la calidad del ambiente acuícola (Tanna et al., 2018). Su contribución diferenciada indica que la combinación de pigmentos puede potenciar la actividad bioactiva frente a distintos tipos de radicales libres.

Así mismo, el dendrograma respalda los hallazgos del PCA al demostrar que las variables asociadas con la actividad antibacteriana y antioxidante tienden a agruparse, evidenciando una fuerte interdependencia entre las respuestas biológicas y el contenido de metabolitos. La agrupación entre las tres especies de *Vibrio* y la actividad antioxidante confirma que la eficacia del extracto frente a los patógenos está mediada por la acción antioxidante de sus metabolitos, especialmente de los compuestos fenólicos y pigmentos. Este patrón coincide con lo descrito por Wijsekara et al. (2011) y Chattopadhyay, Park y Tabor (2008), quienes mencionan que los polifenoles y pigmentos marinos actúan tanto como antioxidantes como inhibidores de membranas bacterianas.

Desde el punto de vista ecológico, el uso de extractos naturales representa una alternativa sostenible frente al uso de antibióticos sintéticos en los cultivos de camarón. Este enfoque contribuye a la reducción del impacto ambiental y promueve la implementación de prácticas biotecnológicas más seguras y responsables.

Sin embargo, es importante reconocer algunas limitaciones de este estudio. Los resultados pueden variar según la época de recolección y las condiciones ambientales, como temperatura, salinidad o luminosidad, las cuales influyen en la concentración de metabolitos secundarios. Asimismo, la estabilidad de los compuestos bioactivos puede verse afectada durante el almacenamiento o la exposición prolongada al oxígeno y la luz. También se recomienda realizar estudios de campo en sistemas productivos reales para validar la eficacia de los extractos en condiciones ambientales variables.

En general, los resultados de esta investigación reafirman la hipótesis planteada: los extractos de *Kappaphycus alvarezii* poseen un efecto antibacteriano cuantificable, evidenciado por un incremento en la zona de inhibición frente a *Vibrio spp.* al aumentar la concentración y el tiempo de exposición. Esto demuestra que el efecto no es fortuito, sino directamente dependiente de las variables analizadas, lo cual confirma la relación entre el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad de inhibición microbiana.

## 9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 9.1. Conclusiones

- Los extractos de *Kappaphycus alvarezii* demostraron una actividad antibacteriana importante frente a *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi* y *Vibrio vulnificus*, evidenciando una relación positiva entre la concentración del extracto, el tiempo de exposición y la zona de inhibición obtenida. El método de extracción con agua-etanol fue el más eficiente, lo que confirma que la combinación de solventes polares favorece la liberación de metabolitos secundarios responsables de la acción antimicrobiana.
- Los resultados permitieron aceptar la hipótesis alternativa al comprobarse que el efecto antibacteriano de *Kappaphycus alvarezii* es cuantificable y dependiente de las condiciones experimentales aplicadas. De esta forma, se valida el potencial de la macroalga como fuente natural de compuestos con aplicación biotecnológica en el control de patógenos acuícolas.
- El método de extracción agua-etanol resultó ser más eficiente que la extracción en agua caliente, al obtener mayores porcentajes de inhibición, actividad antioxidante y concentraciones de compuestos bioactivos como fenoles totales y auxinas.
- La utilización de extractos de *Kappaphycus alvarezii* representa una alternativa ecológica y sostenible frente al uso de antibióticos sintéticos, ya que contribuye a disminuir la contaminación en los ecosistemas costeros y a prevenir la generación de resistencia bacteriana. Su implementación en sistemas de producción de camarón podría fortalecer la bioseguridad y favorecer la adopción de prácticas más limpias dentro del sector acuícola.

## 9.2. Recomendaciones

- Realizar estudios *in vivo* para evaluar la eficacia del extracto de *K. alvarezii* en condiciones reales de cultivo, considerando parámetros como supervivencia, crecimiento y respuesta inmunológica del camarón.
- Investigar combinaciones de *K. alvarezii* con otras especies de macroalgas que hayan demostrado propiedades antibacterianas superiores para explorar posibles efectos sinérgicos.
- Optimizar los métodos de extracción para maximizar la liberación de compuestos bioactivos, explorando diversas técnicas avanzadas.
- Promover el uso de *K. alvarezii* como una herramienta preventiva dentro de un manejo sanitario integral, que combine prácticas de bioseguridad, probióticos y alternativas naturales, reduciendo la dependencia de antibióticos.

## 10.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Aftab Uddina, S., Momin, M., Habibd, A., Akter, S., Hossen, S., Tanchangya, P., & Abdullah, M. (2021). Effects of seaweeds extract on growth, survival, antibacterial activities, and immune responses of *Penaeus monodon* against *Vibrio parahaemolyticus*. *Italian Journal of Animal Science*.
- Albuquerque R, Araújo RL, Souza OV, Vieira RHS dos F. (2015). Antibiotic-resistant *Vibrios* in farmed shrimp. doi: 10.1155/2015/505914
- Aranguren, LF, Han, JE y Tang, KF (2017). *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) es un factor de riesgo para la enfermedad de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) y la necrosis hepatopancreática séptica (SHPN) en el camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei*. *Acuicultura*, 471, 37-42.
- Banerjee S, Ooi MC, Shari, F.F., y M, Khatoon H. (2012). Antibiotic resistant *Salmonella* and *Vibrio* associated with farmed *Litopenaeus vannamei*. *Sci World J* 2012: 130136. doi: 10.1100/2012/130136
- Bermúdez-Almada, M. del C., Espinosa-Plascencia, A., Pedro López-Arwayo, P., & González Carrillo, H. (2012). Efecto Del Congelado Y Cocinado Sobre Residuos De Oxitetraciclina En Camarón De Cultivo.
- Bermúdez-Almada MDC, Espinosa-Plascencia A, Santiago-Hernández ML, Barajas-Borgo CJ, Acedo-Félix E. (2014). Comportamiento de oxitetraciclina en camarón de cultivo *Litopenaeus vannamei* y la sensibilidad a tres antibióticos de bacterias de *Vibrio* aisladas de los organismos. *Biotecnia* 16: 29. doi: 10.18633/bt.v16i3.138
- Bhuyar, P., Rahim M.H., Sundararaju, S., Maniam, G.P., y Govindan, N. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of red seaweed; *Kappaphycus alvarezii* against pathogenic bacteria. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 6(1): 47 - 58

- Biomin. (17 de Enero de 2022). Vibrio en la acuicultura del camarón. <https://www.biomin.net/mx/especies/acuicultura/vibriosis/>
- Chattopadhyay, M., Park, M.H., y Tabor, H. (2008). Hypusine modification for growth is the major function of spermidine in *Saccharomyces cerevisiae* polyamine auxotrophs grown in limiting spermidine. *Proc Natl Acad Sci*, 105 (18): 6554 - 6559
- CNA. (2022). Camarón – Reporte de Exportaciones Ecuatorianas Totales. <https://www.cnaecuador.com/estadisticas/>
- Cruz, L., Tapia, M., Nieto, M., Villareal, D., Gamboa, J., & Martínez, C. (2022). Investigación e Innovación en Nutrición Acuícola.
- CLSI. (2018). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically.
- Elias, N. A., Abu Hassan, M. S., Yusoff, N. A. H., Tosin, O. V., Harun, N. A., Rahmah, S., & Hassan, M. (2023). Potential and limitation of biocontrol methods against vibriosis: a review. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01091-x>
- FAO. (2017). CAMARICULTURA EN AMÉRICA LATINA.
- Foster, E. (1997). Historical overview of key issues in food safety. *Emerging Infectious Diseases*, 481.
- Ganesan, P., Noda, K., Manabe, Y., Ohkubo, T., Tanaka, Y., Maoka, T., Sugawara, T., Hirata, T. (2011). Siphonaxanthin, a marine carotenoid from green algae, effectively induces apoptosis in human leukemia (HL-60) cells. *Biochemica et Biophysica Acta* (BBA). 1810: 497-503

- Gaona, K. (2022). *Impacto del Uso de Macroalgas en el Control de Bacterias Patógenas para el Camarón (Penaeus vannamei)*. Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral. 44p.
- Gutiérrez, R., González, K., Valdés, O., Hernández, Y., & Acosta, Y. (2016). Algas marinas como fuente de compuestos bioactivos en beneficio de la salud humana: un artículo de revisión. *Biocencia*, 20-27.
- Hernández, C., Ulloa, J., Vergara, J., Espejo, R., & Cabello, F. (2005). Infecciones por *Vibrio parahaemolyticus* e intoxicaciones por algas: problemas emergentes de salud pública en Chile. *Revista médica de Chile*, 133, 1081-1088.
- Hende, V. D. (2012). Microalgal Bacterial Floc Properties Are Improved by a Balanced Inorganic/Organic Carbon Ratio. *Biotechnology And Bioengineering*, 550-558.
- Hende, V. D., Vervaeren, H. y Boon, N. (2012). Flue gas compounds and microalgae: (Bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities. *Biotechnology Advances*, 30 (6): 1405 – 1424.
- Lightner, D. V., Redman, R. M., Pantoja, C. R., Tang, K. F. J., Noble, B. L., Schofield, P., Mohny, L.L., Nunan, L.M. y Navarro, S. A. (2012). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. *J Invertebr Pathol*, 110(2):174-83.
- Lizárraga, P., Montoya, R., y Gendrop, F. (1997). El uso de conteos bacterianos en dos criaderos mexicanos de camarón. *Ciencias Marinas*, 23, 129-140.
- Momin, M. (2022). Los extractos de dos algas pardas, *Padina tetrastromatica* y *Sargassum ilicifolium*, tuvieron una actividad antibacteriana máxima contra *Vibrio parahaemolyticus*. Cómo Los Extractos de Algas Pardas Impactan a Las Postlarvas Del Camarón Tigre Negro. <https://www.globalseafood.org/advocate/como-losextractos-de-algas-pardas-impactan-a-las-postlarvas-del-camaron-tigre-negro/>

- Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N.M., Muhammad, K. y Ming, Ch. (2008). Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweed north Borneo. *J Appl Phycol*, 20: 367 – 373
- McCauley, A., Jones, C. and Jacobsen, J. (2009). Nutrient Management. Module No. 8, Montana State University Extension Publications.
- Miranda, C., Yong-Chin, L., Chang-Che, L., Chyng-Hwa, L., Jiann-Chu, Ch. (2010). Administration of the hot-water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(5-6):764-73
- Murray, A. P., Rodríguez, S., Frontera, M. A., Tomas, M. A., & Mulet, M. C. (2004). Antioxidant Metabolites From *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 59(7-8), 477-480.
- Mustafa, G., Wakamatsu, S., Takeda, TA, Umino, T. y Nakagawa, H. (1995). Efectos de la harina de algas como aditivo alimentario sobre el crecimiento, la eficiencia alimenticia y la composición corporal de la dorada. *Ciencias pesqueras*, 61 (1), 25-28.
- Newman, S. (2022). Una actualización sobre la vibriosis, la principal enfermedad bacteriana que enfrentan los camarones - Responsible Seafood Advocate.
- Park, Y., Hwang, S., Hong, M., & Kwon, K. (2012). Use of antimicrobial agents in aquaculture. *Revue scientifique et technique* (International Office of Epizootics), 189-197
- Reyes, A. (2021). Principales agentes infecciosos asociados al cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei* reportados en Ecuador durante el periodo 2010-2021. La Libertad. UPSE, Matriz. Facultad de Ciencias del Mar. 120 p.

- Rojas, M. M., Hernández Rodríguez, A., Rives Rodríguez, N., Tejera Hernández, B., Acebo Guerrero, Y., & Heydrich, M. (2012). Producción de antisueros para la detección de ácido indolacético en cultivos de bacterias promotoras del crecimiento vegetal.
- Rosado, A. (2018). Resistencia antimicrobiana de bacterias del género *Vibrio* en langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*) en centros de cultivo de la región Tumbes. Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú: Univ. Ricardo Palma. 91 p.
- Sasidharan, S., Chen, D., Saravanan, K. M., Sundram, L. y Latha, Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 8 (1): 1-10.
- Sotomayor MA, Reyes JK, Restrepo L, Domínguez-Borbor C, Maldonado M, Bayot B. (2019). Efficacy assessment of commercially available natural products and antibiotics, commonly used for mitigation of pathogenic *Vibrio* outbreaks in Ecuadorian *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* hatcheries. *Plos One* 14: e0210478. doi: 10.1371/journal.pone.0210478.
- Shanmughapriya, S., Manilal, A., Sujith, S., Selvin, J., Seghal, G., y Natarajaseenivasan, K. (2008). Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. *Annals of Microbiology*, 58, 535 – 541
- Stalin, N y Srinivasan, P. (2016). Molecular characterization of antibiotic resistant *Vibrio harveyi* isolated from shrimp aquaculture environment in the south east coast of India. *Microb Pathogenesis*, 97:110-118. doi: 10.1016/j.micpath. -2016.05.02.
- Tanna, B., Choudhary, B., y Mishra, A. (2018). Metabolite Profiling, Antioxidant, Scavenging And Anti-Proliferative Activities Of Selected Tropical Green Seaweeds Reveal The Nutraceutical Potential Of *Caulerpa* spp. *Algal Research*, 36, 96-105.
- Varela-Mejías A y Alfaro-Mora R. (2018). Revisión sobre aspectos farmacológicos a considerar para el uso de antibióticos en la camaronicultura. *Rev Inv Vet Perú* 29: 01-14. doi: 10.15381/rivep.v29i1.14186

- Varela A, Choc-Martínez LF. (2020). Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. *Rev Inv Vet Perú* 3: e18165. doi: 10.15381/rivep.v31i3.18165
- Vatsos, IN y Rebours, C. (2014). Extractos de algas como agentes antimicrobianos en acuicultura. *Revista de Ficología Aplicada*, 27(5), 2017-2035. doi: 10.1007/s10811-014-0506-0.
- Wijesekara, I., Pangestuti, R. y Se – Kwon. (2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*, 84 (1), 14 – 21.