



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

EFFECTO DE UN ADITIVO ACIDIFICANTE EN EL CONTROL
MICROBIOLÓGICO DEL CULTIVO LARVARIO DE *Penaeus vannamei*.

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

FIGUEROA SANTANA PABLO STEVEN

TUTOR:

ACUI. SONNYA PATRICIA MENDOZA LOMBANA, Ph.D.

LA LIBERTAD-ECUADOR

2026



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

**EFFECTO DE UN ADITIVO ACIDIFICANTE EN EL CONTROL
MICROBIOLÓGICO DEL CULTIVO LARVARIO DE *Penaeus vannamei*.**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

FIGUEROA SANTANA PABLO STEVEN

TUTOR:

ACUI. SONNYA PATRICIA MENDOZA LOMBANA, Ph.D.

LA LIBERTAD-ECUADOR

2026

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, EFECTO DE UN ADITIVO ACIDIFICANTE EN EL CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL CULTIVO LARVARIO DE *Penaeus vannamei*”, elaborado por FIGUEROA SANTANA PABLO STEVEN , estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo/a, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente

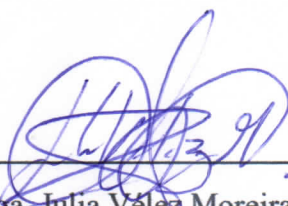


Acui. Sonny Mendoza Lombana, Ph.D.

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista del Trabajo de Integración Curricular “**EFFECTO DE UN ADITIVO ACIDIFICANTE EN EL CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL CULTIVO LARVARIO DE *Penaeus vannamei*.**” elaborado por **PABLO STEVEN FIGUEROA SANTANA** 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 evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por el cual declaro que se encuentra apto para su sustentación

Atentamente



Blga. Julia Vélez Moreira, Mgtr.

DOCENTE DE ÁREA

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a mi familia, en especial a mi madre, Rosa Santana Mero, por su confianza en mí, que me ha inspirado a alcanzar mis objetivos, y su apoyo incondicional ha sido mi mayor fortaleza. Gracias por acompañarme en cada paso del largo camino que he recorrido durante mi vida universitaria y por ser fuente de mi inspiración.

A mis compañeras Alba y Stefanny, su amistad y apoyo han sido fundamentales en este logro. Estoy profundamente agradecido por ello.

El poder finalizar este proyecto ha sido gracias a todos ustedes, siendo parte esencial en diferentes partes de mi día a día.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, doy gracias a la cooperación infinita de mi familia, que es mi pilar en todo momento y me ayuda económicamente para alcanzar mi propósito de ser un profesional en biología.

A la empresa H.A Ecolarva S.A., que me abrió las puertas de sus instalaciones y me apoyó en el desarrollo de mis actividades; a la Ingeniera Mariela Alonso y la bióloga Priscila Haz, encargadas del laboratorio, que me brindaron su apoyo y su conocimiento, supervisando cada una de las acciones realizadas.

Así mismo, a la empresa PREMEX por la donación del producto, asesoría técnica y seguimiento durante los meses de implementación de los tratamientos.

Finalmente, a la acuicultora Sonnya Mendoza, quien fue mi tutora en el presente proyecto, puesto que, con sus ideas científicas y profesionales me orientó en todo momento. Asimismo, a la Universidad por acogerme en la Facultad de Ciencias del Mar, que inculca una educación de calidad a lo largo de la carrera.

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Figueroa Santana Pablo Steven**, como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

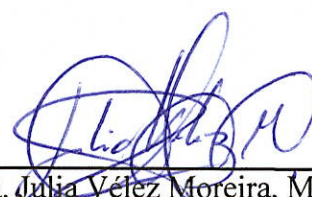
Trabajo de integración curricular **APROBADO** el: 20/08/2026.



Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc.

DIRECTOR DE CARRERA

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Blga. Julia Vélez Moreira, Mgtr.

DOCENTE DE ÁREA

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Ac. Sonnya Mendoza Lombana, Ph.D.

DOCENTE TUTOR

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo. Richard Duque Marín, Mgtr.

DOCENTE GUÍA DE LA UIC II

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lcdo. Pascual Roca Silvestre, Mgtr.

SECRETARIO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

Yo, **Pablo Steven Figueroa Santana** me hago responsable por los datos y resultados obtenidos en mi Trabajo de Integración Curricular.

Por medio de la presente declaración cedo los derechos de auditoria y propiedad intelectual de este trabajo a la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), según lo establecido por la ley de propiedad, reglamento y normativa intelectual vigente.

Atentamente



Pablo Steven Figueroa Santana

C.I. 2400460339

Contenido

RESUMEN.....	10
GLOSARIO	12
ABREVIATURAS	13
CAPITULO I.....	14
1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. PROBLEMÁTICA.....	15
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. OBJETIVO GENERAL.....	18
4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
5. HIPÓTESIS	19
CAPÍTULO II	20
6. MARCO TEÓRICO.....	20
6.1. PRODUCCIÓN MUNDIAL DEL CAMARÓN	20
6.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA Y PRODUCTIVA DEL CAMARÓN	20
6.3. PRODUCCIÓN CAMARONERA EN ECUADOR.....	21
6.4. IMPACTO ECONÓMICO Y SOCIAL	21
IMPORTANCIA DE LOS LABORATORIOS LARVARIOS	22
MANEJO LARVARIO.....	23
ALIMENTACIÓN LARVARIA	23
FACTORES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN LARVARIA.....	24
6.5 ESTADÍOS LARVARIOS DE <i>Penaeus vannamei</i>	24
NAUPLIO	24
ZOEAL	25
MYSIS.....	26
POSTLARVA.....	26
6.6 CALIDAD DE AGUA EN LARVICULTURA	27
TEMPERATURA.....	23
SALINIDAD.....	24
OXIGENO DISUELTO.....	24
Ph.....	24
6.7 MICROBIOLOGÍA EN SISTEMAS LARVARIOS	28

BACTERIAS BENEFICIOSAS	28
6.8 ENFERMEDADES BACTERIANAS EN CAMARÓN	28
SÍNDROME DE BOLITAS	29
SÍNDROME DE ZOEAE	29
6.9 USO DE AGAR TCBS Y CHROMAGAR IDENTIFICACIÓN BACTERIANA	30
INTERPRETACIÓN MICROBIOLÓGICA DE COLONIAS	30
6.10 DEFINICIÓN DE ACIDIFICANTES	31
CLASIFICACIÓN DE ACIDIFICANTES	31
MONOGLICÉRIDOS.....	31
ALTERACIÓN DE MEMBRANA BACTERIANA	31
CAPÍTULO 3	33
7. METODOLOGÍA	33
7.1.ÁREA DE ESTUDIO	33
7.2.TIPO DE INVESTIGACIÓN Y ENFOQUE	33
7.3.FASE DE CAMPO	34
7.4.DISEÑO EXPERIMENTAL.....	34
7.5.TOMA DE MUESTRAS	35
7.6.PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.	35
7.7.ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	36
7.8.SALUD LARVARIA.....	37
7.9.VARIABLES PRODUCTIVAS.....	38
7.10.SUPERVIVENCIA.....	38
7.11.ESTADÍSTICA	38
CAPITULO IV	39
8. RESULTADOS	39
8.1. ANÁLISIS DE CARGA BACTERIANA	39
8.2. CARGA BACTERIANA <i>Pseudomonas spp</i> : PRIMER CICLO PRODUCTIVO	39
8.3. CARGA BACTERIANA <i>Pseudomonas spp</i> : SEGUNDO CICLO PRODUCTIVO	41
8.4. CARGA BACTERIANA <i>Pseudomonas spp</i> : TERCER CICLO PRODUCTIVO ...	42
8.5. CARGA BACTERIANA VIBRIOS VERDES Y AMARILLOS: PRIMER CICLO PRODUCTIVO	43
8.6. CARGA BACTERIANA VIBRIOS VERDES Y AMARILLOS: SEGUNDO CICLO PRODUCTIVO	45

8.7. CARGA BACTERIANA VIBRIOS VERDES Y AMARILLOS: TERCER CICLO PRODUCTIVO	47
8.8. CARGA BACTERIANA DE <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> : PRIMER CICLO PRODUCTIVO	49
8.9. CARGA BACTERIANA DE <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> : SEGUNDO CICLO PRODUCTIVO	53
8.10. CARGA BACTERIANA DE <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> : TERCER CICLO PRODUCTIVO	56
8.11. SALUD LARVARIA	60
8.12. SUPERVIVENCIA	66
CORRIDA 1	66
CORRIDA 2	66
CORRIDA 3	67
8.13. PARÁMETROS FÍSICOS QUÍMICOS	69
CAPITULO V	70
9. DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	70
9.1. DISCUSIÓN	70
9.2. CONCLUSIONES	73
9.3. RECOMENDACIONES	74
10. BIBLIOGRAFÍAS	74

Índice de gráficos

Gráfico 1: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Pseudomonas</i> en estadios Zoea-Nauplio.....	40
Gráfico 2: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Pseudomonas</i> en estadios PL 4 – 10	41
Gráfico 3: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Pseudomonas</i> en el estadio PL 3 – 9.....	42
Gráfico 4: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Pseudomonas</i> en estadios Mysis - PL 3 – 9..	43
Gráfico 5: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadios Zoea - Mysis	44
Gráfico 6: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadio PL 4 - 10	45
Gráfico 7: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadios Nauplio - Mysis	46
Gráfico 8: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadios PL 3- 9	47
Gráfico 9: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadio Nauplio - Mysis	48
Gráfico 10: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadios PL 3 - 9	49
Gráfico 11: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadios Zoea.....	50
Gráfico 12: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadios Mysis	51
Gráfico 13: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadio PL 4.....	52
Gráfico 14: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadio PL 9.....	53
Gráfico 15: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadio Nauplio - Mysis	54
Gráfico 16: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadio PL 3.....	55
Gráfico 17: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadio PL 9.....	56
Gráfico 18: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadio Nauplio -Mysis	57
Gráfico 19: Cuantificación de carga bacteriana de <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>parahaemolyticus</i> y <i>vulnificus</i> en estadio PL 3 - 9.....	58
Gráfico 20: Matriz de correlación de Spearman entre tres variables de estudio	60
Gráfico 21: Calificación de grados de severidad de salud larvaria en estadio Zoea	61
Gráfico 22: Calificación de grados de severidad de salud larvaria en estadio Mysis.....	63
Gráfico 23: Calificación de grados de severidad de salud larvaria en estadio postlarva	64
Gráfico 24: Supervivencia final de cada tratamiento durante la primera corrida	66
Gráfico 25: Supervivencia final de cada tratamiento durante el ciclo de producción 2.....	67

Gráfico 26: Supervivencia final de cada tratamiento del tercer ciclo productivo.....	68
---	-----------

Índice de tabla

Tabla 1: Diferentes agares selectivos para siembras microbiológicas	36
Tabla 2: Escala de observaciones de salud larvaria	37
Tabla 3: Carga bacteriana (Log UFC mL⁻¹) registrada en los diferentes tratamientos	59
Tabla 4 :Valores de desviación estándar de salud larvaria	65
Tabla 5 tabulación de parámetros fisicoquímicos de agua durante los ciclos productivos	69

Índice de figuras

Figura 1: Subestadios nauplio	25
Figura 2: Estadio Zoea	25
Figura 3: Estadio Mysis	26
Figura 4: Estadios Postlarvas	27
Figura 5: Laboratorio de larvas	33
Figura 6: Diseño de tratamientos a evaluar en el bioensayo, distribución y Representación de los tanques de cultivo.....	35
Figura 7: Observación microscópica de salud larvaria en estadio Zoea.....	61
Figura 8: Observación microscópica de salud larvaria en estadio Mysis.	62
Figura 9: Observación microscópica de salud larvaria en estadio PostLarva.	64

RESUMEN

Esta investigación evaluó un aditivo acidificante comercial, compuesto por ácidos grasos de cadena corta y media, sobre el control microbiológico, la condición tisular y la supervivencia de postlarvas de *Penaeus vannamei*. El bioensayo se ejecutó en tanques de 18 toneladas durante tres ciclos productivos, comparando un grupo Control con el Tratamiento 1 (T1: dosis 2 gramos por tonelada) y el tratamiento 2 (T2: dosis de 4 gramos por tonelada).

La correlación de Spearman demostró que el aditivo redujo de forma selectiva y acumulativa los *vibrios totales* ($\rho = -0.3$; $p = 0.005$), manteniendo neutralidad biológica ante *Pseudomonas spp.*. Asimismo, se optimizó drásticamente la morfología tisular intestinal, disminuyendo el Índice de Salud Larvaria (ISL) desde un daño de 5.26 ± 2.36 en el Control con valores idóneos de 3.06 ± 1.74 (T1) y 3.16 ± 1.81 (T2). El análisis PERMANOVA confirmó que la estrategia profiláctica explicó el 57.1% de la variabilidad total de la salud celular ($R^2 = 0.571$; $p < 0.001$).

A nivel zootécnico, el ANOVA de dos vías ratificó un incremento rotundo en la supervivencia global ($F = 62.95$; $p < 0.001$), elevándola desde 69.56% en el Control hasta 81.89% en T1 y 84.67% en T2, de forma reproducible en el tiempo. Al confirmarse que duplicar la dosis no generó ventajas estadísticas adicionales, se concluye que la dosis menor (T1) constituye la alternativa operativamente idónea y económicamente viable para optimizar la larvicultura.

Palabras clave: *Penaeus vannamei*, aditivo acidificante, control microbiológico, Índice de Salud Larvaria, supervivencia, PERMANOVA.

ABSTRACT

This study evaluated a commercial acidifying additive composed of short- and medium-chain fatty acids on microbiological control, tissue condition, and postlarval survival of *Penaeus vannamei*. The bioassay was carried out in 18-ton tanks across three production cycles, comparing a Control group with Treatment 1 (T1: continuous dose) and Treatment 2 (T2: internal protocol dose).

Spearman's correlation demonstrated that the additive selectively and cumulatively reduced total vibrios ($\rho = -0.3$; $p = 0.005$), while maintaining biological neutrality toward *Pseudomonas* spp.. Additionally, intestinal tissue morphology was drastically optimized, reducing the Larval Health Index (LHI) from a damage score of 5.26 ± 2.36 in the Control to optimal values of 3.06 ± 1.74 (T1) and 3.16 ± 1.81 (T2). PERMANOVA analysis confirmed that the prophylactic strategy accounted for 57.1% of the total variability in cellular health ($R^2 = 0.571$; $p < 0.001$).

At the zootechnical level, the two-way ANOVA confirmed a significant increase in overall survival ($F = 62.95$; $p < 0.001$), elevating it from 69.56% in the Control to 81.89% in T1 and 84.67% in T2, reproducibly over time. Since doubling the dose did not yield additional statistical advantages, it is concluded that the lower dose (T1) represents the operationally ideal and economically viable alternative for optimizing larviculture.

GLOSARIO

Acidificante orgánico: Compuesto químico basado en ácidos orgánicos o sus sales utilizado para reducir el pH del medio acuático o del tracto digestivo de los organismos, actuando como un agente promotor de la salud y barrera profiláctica frente a patógenos.

Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa): Medio de cultivo sólido y selectivo diseñado específicamente para el aislamiento, conteo y diferenciación de bacterias del género *Vibrio* en muestras acuícolas e histológicas.

Bacteriostático: Sustancia o agente profiláctico que posee la capacidad de inhibir la reproducción y el crecimiento celular de las bacterias sin destruirlas de forma inmediata.

ChromAgar Vibrio: Medio de cultivo microbiológico cromogénico y selectivo de última generación que permite identificar de forma rápida y visual cepas bacterianas específicas mediante la coloración diferencial de sus colonias.

Cromatóforos: Células especializadas que contienen pigmentos en el tejido de las larvas, cuya distribución o concentración microscópica sirve como indicador de estrés fisiológico o adaptativo ante variaciones ambientales.

Disbiosis: Alteración o desequilibrio drástico en la composición y abundancia de la microbiota normal de un organismo o de la columna de agua, lo que incrementa la susceptibilidad a infecciones patógenas.

Eubiosis: Estado de perfecto equilibrio biológico y funcional de la microbiota bacteriana benéfica dentro del tracto digestivo del hospedero, favoreciendo la asimilación de nutrientes y la respuesta inmune.

ABREVIATURAS

AHPND: Enfermedad de la Necrosis hepatopancreática Aguda

ANOVA: Análisis de Varianza

APA: Asociación Americana de Psicología

CNA: Cámara Nacional de Acuicultura.

EMS: Síndrome de la Mortalidad Temprana

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

ISL: Índice de Salud Larvaria. M (M1, M2, M3): Estadio Mysis y sus respectivos subestadios.
mg/L: Miligramos por litro.

Nf: Número final de organismos cosechados.

Ni: Número inicial de organismos sembrados.

PERMANOVA: Análisis de Varianza Permutacional Multivariado

pH: Potencial de hidrógeno.

ppt: Partes por mil (unidad de salinidad).

TCBS: Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa.

UFC/mL: Unidades Formadoras de Colonias por mililitro de agua.

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

La crianza de camarones comenzó a desarrollarse como una actividad próspera en Ecuador durante los años 60, primero en la provincia de El Oro y luego se expandió a Guayas, Manabí, Esmeraldas y Santa Elena (Pereira, 2022). Además, este método de cultivo se ha establecido como uno de los líderes en exportación, ayudando al avance de áreas como la crianza de larvas, la fabricación de alimentos balanceados, plantas de empaque, así como empresas exportadoras y distribuidoras de insumos (Reyes, 2018).

El camarón es considerado el producto acuícola más importante de exportación de Ecuador; representa cerca del 95% de la producción del país, además, la industria del camarón es una de las principales fuentes de ingresos económicos en Ecuador que generó 6,068 millones de dólares en 2024 (CNA, 2024). Sin embargo, uno de los retos más característicos que enfrenta la industria son las enfermedades bacterianas que causan pérdidas económicas considerables (Forbes, 2025).

Las enfermedades bacterianas causadas por diversas especies de *Vibrios* en los sistemas de cultivos de camarones provocan pérdidas que se calculan en un 60%, y las principales son el virus del síndrome de la mancha blanca Y IHNV, además para la industria del camarón, la vibriosis constituye una amenaza constante. Controlar estos patógenos es esencial durante la fase de producción de larvas, ya que la ausencia de un tratamiento adecuado puede tener efectos significativos en la producción de larvas (Escobar, 2023).

Además, los métodos más implementados para controlar la proliferación de patógenos son: los ácidos orgánicos, los probióticos y los aceites esenciales (González, 2014). Los aditivos acidificantes representan una de las opciones más comunes, no solo porque ayudan a controlar las

enfermedades y a aumentar la supervivencia, sino también porque son esenciales para mejorar la conversión de alimentos durante la producción (Tirapé, 2015).

2. PROBLEMÁTICA

Los sistemas de cultivo de *Penaeus vannamei* en estados iniciales es una de las fases más complejas en el sector acuícola, bajas tasas de supervivencia y calidad de larvas son factores claves para la rentabilidad y productividad de los siguientes ciclos, sin embargo en esta etapa existen complicaciones sanitarias, introducción de patógenos y una mala calidad de agua pueden desencadenar una proliferación masiva de bacterias patógenas las cuales causan un alto porcentaje de mortalidad, una baja tasa de supervivencia y pérdidas económicas significativas en los laboratorios de larvicultura.

Actualmente existen diversos tratamientos y compuestos como aceites esenciales, ácidos orgánicos, probióticos con gran capacidad profiláctica para el control de patógenos lo que ha provocado una resistencia bacteriana significativa a estos tipos de compuestos, provocando un desequilibrio en microbiota benéfica del camarón, debido la situación actual se impulsa la búsqueda, investigación o pruebas de campo de alternativas profilácticas seguras, sostenibles y efectivas que inhiban la carga bacteriana, mejorando la salud larvaria, supervivencias, tasa de crecimiento y sin afectar los sistemas de cultivos.

En este contexto, los aditivos acidificantes comerciales se han posicionado como una medida profiláctica innovadora y económica, ya que su posee la capacidad de reducir el pH de medio intestinal de las larvas de camarón y en el medio de cultivo inhibiendo el desarrollo de bacterias patógenas, lo que a su vez mejora la microbiota beneficiosa para los cultivos, sin embargo la investigación y desarrollo en campo aún es limitada y poco conocida lo que dificulta la generalización de la medida profiláctica dentro de los laboratorios de cultivos de camarón.

Debido a esta situación, es necesario investigar y evaluar la eficacia de un aditivo acidificante para el control e inhibición de bacterias patógenas, observando su efecto en la supervivencia y control de la salud larvaria, con el propósito de fortalecer la información técnica que permita mejorar las prácticas de manejo sanitario y control que fortalecen la sostenibilidad de la camaronicultura en Ecuador.

3. JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que el uso de antibióticos y otros compuestos ha provocado problemas a la hora de inhibir la proliferación de bacterias patógenas, en este contexto, los aditivos acidificantes se posicionan como una alternativa ya que desempeñan un rol importante dentro de la nutrición animal mediante varios mecanismos de acción, lo cual justifica su uso en la producción larvaria, incrementando la actividad microbiana dentro del intestino del camarón.

Además, a nivel metabólico es un agente inhibidor microbiano, reduciendo el pH del medio, lo cual desnaturaliza la proteína, lo cual conlleva una lisis celular de las bacterias, mejorando significativamente la salud, la supervivencia final, la conversión alimenticia diaria y el rendimiento óptimo en la producción y rentabilidad en cada ciclo productivo de *Penaeus vannamei*. Además, favorecen el crecimiento de bacterias benéficas y ácidos grasos volátiles.

Por lo general en Ecuador existe muy poca información sobre el uso de los aditivos acidificantes como agentes antimicrobianos que se usan en la acuicultura siendo está muy limitada, y en gran parte controlada por las grandes empresas de insumos acuícolas a nivel nacional, sin embargo, al combinarse con una alimentación de calidad, los aditivos acidificantes con su gran potencial de actuar como barrera protectora inhibiendo el crecimiento microbiano, incrementando el porcentaje de supervivencia y salud larvaria, debido a esto el enfoque podría ser rentable por lo que no solo inhibe el crecimiento de patógenos, sino que también respalda variables productivas como parámetros zootécnicos de las etapas tempranas en los sistemas de cultivo de *Penaeus vannamei*.

Al facilitar un mejor alcance del comportamiento de las bacterias patógenas frente a estos compuestos y al disminuir la presencia de patologías asociadas, se origina una producción más

sostenible. Además, no solo mejora la rentabilidad, sino también proporciona soluciones prácticas y mejoras de manejo ante la deficiencia de tratamientos profilácticos naturales y alternativos que enfrenta la acuicultura actual.

4. OBJETIVO GENERAL

Analizar la eficiencia de un aditivo acidificante en el cultivo larvario de *Penaeus vannamei* mediante el control microbiológico, determinando su potencial profiláctico en la salud larvaria y supervivencia

4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detectar la reducción de bacterias patógenas mediante pruebas microbiológicas
- Comparar la salud larvaria mediante evaluaciones microscópicas de la morfología y patologías durante tres ciclos productivos.
- Determinar la supervivencia de postlarvas de camarón identificando la efectividad del aditivo acidificante.

5. HIPÓTESIS

H1: La aplicación de un aditivo acidificante comercial controla la carga bacteriana y mejora la supervivencia en el cultivo larvario de *Penaeus vannamei*.

CAPÍTULO II

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Producción mundial del camarón

La producción mundial del camarón muestra un crecimiento sostenible por el aumento de la demanda en los mercados internacionales de camarón y el avance tecnificado, según la FAO la producción mundial de *Penaeus vannamei* por producción acuícola alcanzó los 6 millones de TN en el año 2025, debido a que la especie posee gran adaptabilidad, crecimiento y rentabilidad económica (FAO, 2025).

Los países productores y exportadores que más sobresalen son China, India, Vietnam, Indonesia y Ecuador; estos países han consolidado sus economías mediante la implementación y desarrollo de sistemas intensivos y exportadores. En Ecuador la producción acuícola de camarón alcanzó exportaciones superiores a los 6 mil millones de dólares en 2024 con cerca de 1,2 millones de TN métricas exportadas, este nivel de producción y exportación lo llevó a posicionarse como el líder mundial en exportación, también en 2025 las exportaciones de Ecuador alcanzaron los 8.4 mil millones de dólares posicionando al camarón como principal producto de exportación no petrolero del Ecuador lo cual generó un importante incremento económico y generó empleos en el sector productivo (Reuters, 2026; Shrimp Insights, 2025).

6.2. Importancia económica y productiva del camarón

La acuicultura ecuatoriana constituye uno de los sectores con mayor crecimiento económico del Ecuador, aporta a las exportaciones y genera empleos en el sector. El cultivo de *Penaeus vannamei* ha permitido que el Ecuador se encuentre entre los principales productores y exportadores a nivel mundial, posee las condiciones necesarias y el desarrollo técnico de la acuicultura actual (Borbor & Valdiviezo, 2024).

También, el aumento de producción acuícola de camarón en el Ecuador ha impulsado el desarrollo de laboratorios de larvicultura, sistemas de bioseguridad, nuevas técnicas de manejo, control sanitario que aumentan la supervivencia y productividad de los cultivos. No obstante, las enfermedades bacterianas y problemas microbiológicos son una de las limitantes para los ciclos de producción larvaria, también se han implementado medios sostenibles como los aditivos acidificantes y monoglicéridos (Sánchez Méndez, 2022).

6.3. Producción camaronera en Ecuador

La producción camaronera en Ecuador forma parte de los sectores importantes condiciones ambientales de la economía ecuatoriana, esto posiciona al país como el principal productor y exportador de camarón del mundo, gracias a su desarrollo tecnológico, condiciones ambientales óptimas, tecnificación de las fincas y fortalecimiento de las condiciones acuícolas, Ecuador alcanzó cifras récord en el año 2024 y 2025 produciendo 6,6 mil millones de toneladas exportadas y generando 14.5 mil millones de dólares para la economía interna del país incrementando la generación de empleo, desarrollo técnico y manejo óptimo de la infraestructura y producción acuícola (Reuters, 2026).

6.4. Impacto económico y social

El sector camaronero ecuatoriano genera un impacto económico y social durante 2024 y 2025. Las exportaciones no petroleras crecieron un 12 %, siendo el camarón uno de los productos con mayor aporte. En 2024, las zonas portuarias en El Oro y Guayas destacaron por su logística, industrias y desarrollo, las mismas que generan empleo rural y costero, mejorando los ingresos económicos de las comunidades vinculadas a la

acuicultura y al procesamiento de productos marinos. Estudios recientes dicen que la producción camaronera constituye fuentes de divisas e inversión (Forbes Ecuador, 2025).

6.5. Larvicultura de camarón

La larvicultura de camarón constituye un eslabón importante en la acuicultura; esta labor produce larvas de camarón (*Penaeus vannamei*), las cuales están destinadas a la producción acuícola comercial; en los laboratorios se aplican procesos especializados, que controlan parámetros físicos y químicos como temperatura, salinidad, oxígeno, alimentación, garantizando la calidad microbiológica, supervivencia y desarrollo larvario (Espinoza, 2016). Esta eficiencia influye directamente en la productividad y rentabilidad de la industria camaronera. Gracias a los procesos, las postlarvas mantienen un mejor rendimiento en las etapas de engorde. Sin embargo, el incremento de las enfermedades bacterianas que son ocasionadas por *Vibrio* y *Pseudomonas* ha impulsado el desarrollo e implementación de prácticas de bioseguridad, mejoras en aditivos, prebióticos y probióticos para reducir y mejorar la salud larvaria (Méndez, 2022).

Importancia de los laboratorios larvarios

Los laboratorios de producción larvaria garantizan el abastecimiento continuo de larvas de camarón de calidad para las camaroneras; esto fortalece la sostenibilidad y competitividad acuícola. El monitoreo microbiológico, manejo nutricional y medidas de control sanitario permiten reducir pérdidas ocasionadas por enfermedades patógenas (Méndez, 2022). En los últimos años la implementación de nuevas técnicas y alternativas tecnológicas sostenibles como el uso de nuevos aditivos ha cobrado importancia en los sistemas de cultivo larvarios que fortalecen al sector camaronero (FAO, 2022).

Manejo larvario

El manejo de los sistemas de cultivo es una de las fases fundamentales en la producción acuícola. Este proceso depende de la supervivencia, calidad y desarrollo adecuado de las postlarvas. Un manejo inadecuado puede generar estrés larvario, problemas de metamorfosis y mayor susceptibilidad a patógenos (Méndez, 2022). Además, se implementan estrictas medidas de bioseguridad, favoreciendo el incremento de la productividad y eficiencia en la industria camaronera (Acosta, 2016).

Alimentación larvaria

La alimentación en los estadios iniciales es uno de los factores definitivos en el desarrollo, crecimiento y supervivencia de las larvas de camarón, debido a que durante las primeras etapas las larvas de camarones requieren nutrientes esenciales muy específicos para tener un desarrollo óptimo y fortalecer su morfología (Espinosa, 2023). En los laboratorios de larvicultura emplean diferentes tipos de alimentos entre ellos, artemias y dietas balanceadas específicas para cada estadio larvario, una alimentación adecuada mejora la calidad, favorece el crecimiento y fortalece el sistema de defensa de los organismos a diferentes patógenos (Sánchez, 2022).

También, un manejo adecuado de las dosificaciones, un suministro constante y cantidad de alimento para evitar las deficiencias nutricionales. Asimismo, disminuye la materia orgánica en los tanques, ya que la acumulación deteriora la calidad de agua favoreciendo a la proliferación bacteriana de patógenos. Actualmente, se incorporan suplementos funcionales, probióticos, y aditivos acidificantes en la alimentación lo que ha cobrado una gran importancia que mejora la salud intestinal fortaleciendo la microbiota benéfica y aumentando la supervivencia en sistemas intensivos (FAO, 2022).

Factores que afectan la producción larvaria

La producción de larvas de camarón *Penaeus vannamei* puede verse afectada por varios elementos físicos, biológicos y de manejo que influyen directamente en la supervivencia, calidad y crecimiento de las postlarvas, entre estos factores se encuentran factores físicos que afectan directamente el desarrollo, generando un estrés en los organismos. Por otra parte, las altas densidades de siembra y deficiencias en la alimentación pueden incrementar la mortalidad, disminuyendo la eficiencia productiva en los laboratorios de producción (Acosta Espinoza, 2016).

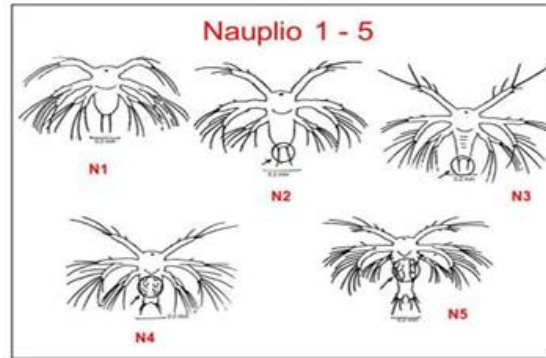
6.6 Estadíos larvarios de *Penaeus vannamei*

El desarrollo morfológico de larvas de camarón en larvicultura incluye 4 estadíos: nauplio, zoea, mysis y postlarva. Estos cambios morfológicos ocurren tras sucesivas mudas hasta lograr obtener un estadio adecuado para el cultivo comercial. El adecuado desarrollo de estos estadíos depende de factores como la calidad del agua, alimentación y control microbiológico dentro de los sistemas de cultivo (FAO, 2009).

Nauplio

Este estadio es la primera fase en los sistemas de cultivo de laboratorio, después de la eclosión del huevo, y comprende 5 subestadíos. Durante esta etapa, las larvas presentan movimiento limitado y se alimentan de sus reservas vitelinas como fuente de energía, sin necesidad de alimentación externa. El nauplio mide entre 0.30 y 0.55 mm de longitud y posee un cuerpo ovado con tres pares de apéndices que sirven para la movilidad y la natación (FAO, 2009). En esta fase se presenta una metamorfosis y alta sensibilidad a variaciones ambientales, físicas y químicas siendo necesario mantener estos parámetros para precautelar el correcto cambio de estadio (Kitani, 1996).

Figura 1: Subestadios nauplio



Nota: La figura describe los 5 subestadios del estadio Nauplio que dura 36 horas (Marcillo, 2014).

Zoea

El estadio zoea corresponde a la segunda fase larvaria que comprende 3 subestadios (z1- z3), en esta etapa las larvas suelen medir de 0.9 – 2.5 mm y presentan cambios morfológicos significativos, se desarrolla el tracto digestivo, las espinas dorsales y estructuras para el movimiento y natación, aquí se inicia la alimentación externa consumiendo microalgas que son necesarias para el crecimiento y la metamorfosis. (FAO, 2009).

Figura 2: Estadio Zoea



Nota: En el estadio Zoea se observan 3 subestadios que dura alrededor de 72 horas (Istock, 2023).

Mysis

La fase de mysis pertenece a la tercera fase larvaria y comprende tres subestadios (M1–M3). Durante esta etapa las larvas adquieren un tamaño aproximado de 2,1 a 3,8 mm de longitud y presentan un aspecto más equivalente a un camarón juvenil, desarrollando pleópodos, abdomen segmentado. Las mysis nadan generalmente en posición vertical con la cabeza hacia abajo y se alimentan principalmente de Artemia, rotíferos y dietas balanceadas (Kitani, 1996).

Figura 3: Estadio Mysis



Nota: Estadio (Mysis) se divide en 3 subestadios que dura 72 horas con diferentes cambios morfológicos (Figuroa, 2026).

Postlarva

El estadio de postlarva corresponde a la etapa final del desarrollo larvario de *Penaeus vannamei*, en la que las larvas adquieren características morfológicas similares a un camarón juvenil. Durante esta etapa, las postlarvas presentan un tamaño aproximado de 4 a 12 mm de longitud según la edad (PL1–PL12), con un cuerpo segmentado, desarrollo funcional de pleópodos y mayor capacidad de natación y alimentación. (Kitani, 2008). En esta etapa los organismos adoptan hábitos bentónicos y consumen Artemia, dietas balanceadas, microencapsuladas y otros alimentos formulados. Igualmente, la

postlarva es considerada una etapa crítica para la producción acuícola, ya que la calidad sanitaria, nutricional y fisiológica de las postlarvas influye directamente en el rendimiento y la supervivencia durante el cultivo comercial (FAO, 2009).

Figura 4: Estadíos Postlarvas



Nota: Los estadíos postlarva se dividen en 20 subestadíos de PL 1 a PL 20. Esta fase dura alrededor de 20 días. (Figueroa, 2026).

6.7 Calidad de agua en larvicultura

Uno de los factores más importantes en la larvicultura es la calidad de agua, la misma influye significativamente sobre el crecimiento, supervivencia y salud durante su desarrollo, parámetros físicos como temperatura y otros mencionados deben mantenerse dentro de los rangos óptimos para evitar un desequilibrio fisiológico, problemas de muda y mortalidades tempranas (Domínguez Cruz & Vera Lazo, 2022), además estos desequilibrios parámetros físico y químicos favorecen la proliferación de bacterias patógenas y disminuyen la calidad de larvas, además estudios actuales han demostrado que el control en la calidad de agua mejora significativamente el buen desarrollo y supervivencia en los sistemas de cultivos (Velasquez López, 2023).

6.8 Microbiología en sistemas larvarios

En los sistemas de cultivos la microbiología es un factor clave para la salud, supervivencia y productividad de cada ciclo productivo, dentro de los sistemas existe una gran variedad de microorganismos presentes en la columna de agua, alimento, superficies de cultivo, esto incluye bacterias beneficiosas y patógenas (Tinh, 2008). Una masiva proliferación de vibrios y otros microorganismos patógenos pueden afectar directamente el desarrollo de los organismos, ocasionando mortalidades masivas, por lo tanto, es fundamental implementar estrategias de bioseguridad y control microbiológico para mantener la estabilidad microbiológica del sistema y mejorar cada ciclo productivo (FAO, 2024).

Bacterias beneficiosas

En un medio de cultivo las bacterias benéficas cumplen un rol importante en el desarrollo de cada ciclo productivo, ya que ayudan a mejorar la calidad de agua, fortalecen la microbiota intestinal y disminuyen bacterias patógenas en el medio, además, se utilizan diferentes probióticos a base de *Bacillus spp.*, debido a su capacidad de degradar y reducir materia orgánica, evitando la producción de compuestos tóxicos (Alvarado, 2024). Otros estudios muestran que la aplicación de bacterias probióticas en medios de cultivo mejoró y aumentó la supervivencia entre un 5 y 10 % (Baque Yoza, 2024).

6.9 Enfermedades bacterianas en camarón

El productor de camarón debe tener especial cuidado durante la etapa larvaria, puesto que existe mayor susceptibilidad ante agentes infecciosos presentes en el medio, la infección del cultivo puede conllevar un descenso elevado del número de organismos sembrados, lo que resulta en impactos económicos para el acuicultor (Cámara Nacional de Acuicultura, 2023).

La adopción de normas de bioseguridad es crucial para controlar la presencia de virus, protozoarios, hongos y bacterias, que son altamente dañinos en las diferentes etapas desde que atraviesa la larva, desde el estadio inicial de nauplio hasta llegar a postlarva, estas infecciones se manifiestan en la morfología anormal del animal, falta de movilidad, tamaño y otras características de los individuos durante las fases antes mencionadas (Mejía, 2018).

Síndrome de bolitas

Es una enfermedad que se puede localizar fácilmente en los entornos acuícolas, también conocida como “bolitas”, y ha provocado un aumento en las tasas de mortalidad en la mayoría de las instalaciones dedicadas a la larvicultura. La sintomatología clínica observada puede describirse como una descamación celular en el tracto gastrointestinal de los organismos, lo que provoca una muerte rápida y, en algunos casos, la pérdida total de los organismos sembrados (Villacís, 2023). En la literatura se ha señalado que esta afección es causada por *Vibrio harveyi*; si no se manejan adecuadamente las densidades de esta bacteria y los parámetros de temperatura, será cada vez más difícil controlar sus infestaciones.

Síndrome de Zoea

Esta es una enfermedad bacteriana que afecta principalmente una de las fases tempranas del cultivo larvario. El síndrome de Zoea se caracteriza por disminución del consumo de alimento, retrasos e inflamación, acompañado de mortalidad severa (Alavandi, 2017). Además, diversos estudios relacionan estos síndromes con altas cargas bacterianas en los sistemas de cultivo.

6.10 Uso de agar TCBS y ChromAgar identificación bacteriana

El agar TCBS y el ChromAgar Vibrio son medios microbiológicos utilizados para la identificación de bacterias patógenas en sistemas larvarios de *Penaeus vannamei*. El TCBS permite diferenciar “vibrios amarillos” sacarosa positivos como *Vibrio alginolyticus* y “vibrios verdes” sacarosa negativos como *Vibrio parahaemolyticus*. Por otro lado, el ChromAgar Vibrio facilita una identificación más específica mediante coloración diferencial de colonias, permitiendo detectar especies patógenas como *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae*. En niveles menores a 10^2 – 10^3 UFC/mL son considerados aceptables, ya que altas concentraciones de *Vibrio* spp. y *Pseudomonas* spp. pueden afectar la supervivencia larvaria. Por ello, estos medios son importantes para el monitoreo microbiológico y control sanitario en larvicultura (Gómez-Gil, 1998) / (Hara-Kudo, 2001).

Interpretación microbiológica de colonias

La interpretación microbiológica de colonias en agar TCBS y ChromAgar es fundamental para identificar bacterias patógenas en sistemas larvarios de *Penaeus vannamei*. En TCBS, las colonias amarillas indican bacterias sacarosa positivas como *Vibrio alginolyticus*, mientras que las verdes corresponden generalmente a *Vibrio parahaemolyticus*. (Glackin, 2024). El ChromAgar Vibrio permite una identificación más específica mediante cambios de coloración diferencial de colonias, optimizando la detección rápida de especies patógenas. También, la forma, tamaño y abundancia de colonias ayudan a evaluar la carga bacteriana y el estado sanitario del cultivo larvario (Canellas, 2023).

6.11 Definición de acidificantes

Utilizados para disminuir el pH del agua o del tracto de los organismos cultivados los acidificantes orgánicos o inorgánicos con el objetivo de mejorar la salud, crecimiento, supervivencia y la inhibición de bacterias patógenas (Romano, 2015). Estos aditivos inhiben el crecimiento de bacterias como *Vibrios spp* y *Pseudomonas spp.*, estos compuestos contribuyen en el equilibrio microbiológico, mejorando la digestibilidad de los nutrientes, los acidificantes más utilizados están los ácidos orgánicos, sales orgánicas y monoglicéridos, los cuales demuestran ser una alternativa sustentable y sostenible frente al uso de antibióticos (Da silva, 2023).

Clasificación de acidificantes

Los aditivos en la acuicultura incluyen ácidos orgánicos, sales y monoglicéridos, que se usan por su capacidad para inhibir bacterias patógenas y promover una mayor estabilidad. Entre ellos se encuentran el ácido fórmico, el ácido cítrico, el ácido láctico y el butírico (Romano, 2015).

Monoglicéridos

Los monoglicéridos son compuestos lipídicos con propiedades antimicrobianas que contribuyen a potenciar la salud intestinal y el control de *Vibrio spp*. Además, las mezclas comerciales combinan distintos acidificantes para mejorar sus efectos en el crecimiento, supervivencia y bioseguridad en cultivos de *Penaeus vannamei* (Da Silva, 2023).

Alteración de membrana bacteriana

Los aditivos acidificantes perturban la membrana celular de bacterias patógenas como *Vibrio spp.* y *Pseudomonas spp.* al integrarse en forma no disociada a la célula bacteriana. Luego, liberan protones (H^+) cae el pH y inducen daño en la membrana,

variación enzimática y pérdida del sistema metabólico bacteriano (Rebelo, 2023). Este mecanismo reduce el crecimiento y la supervivencia de bacterias patógenas, favoreciendo el control microbiológico y la bioseguridad en sistemas larvarios de *Penaeus vannamei*.

Efecto sobre supervivencia larvaria

Los agentes acidificantes han demostrado tener efectos beneficiosos en la supervivencia de larvas de *Penaeus vannamei* al reducir la proliferación de bacterias perjudiciales como *Vibrio spp.* y al mejorar el balance microbiológico en los sistemas de cultivo (Romano,2015). Su propiedad antimicrobiana ayuda a disminuir el estrés y las infecciones bacterianas durante las fases de zoea, mysis y postlarva, promoviendo una mejor salud intestinal y una mayor resistencia en las larvas. Varios estudios indican aumentos significativos en la supervivencia al utilizar combinaciones de ácidos orgánicos y monoglicéridos en la larvicultura, considerándose opciones sostenibles en lugar de antibióticos (Viotto, 2024).

CAPÍTULO 3

7. METODOLOGÍA

7.1. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de un laboratorio de cultivo de postlarvas de camarón, ubicado en La Diablica- Punta Carnero, entre 2°15'43"S 80°55'57"W, Salinas, Provincia de Santa Elena.

Figura 5: Laboratorio de larvas



Nota: La siguiente imagen representa la ubicación del laboratorio de larvas de *Peneus vannamei*.

Fuente: Google Earts, 2025.

7.2. Tipo de investigación y enfoque

Este estudio se basó en la observación cuantitativa y cualitativa, con un enfoque experimental, investigativo y descriptivo, que se llevó a cabo mediante pruebas microbiológicas y la aplicación de campo bajo condiciones controladas. Se aplicaron dos tratamientos: AA-1 (Aditivo Acidificante A) y AA-2 (Aditivo Acidificante protocolo interno B). También se agregó un grupo control. Por otra parte, cada tratamiento será muestreado en 3 tanques (replicas) durante los 3 ciclos productivos.

7.3. Fase de campo

En este estudio se utilizó una mezcla sinérgica de ácidos grasos como un aditivo acidificante que mejorar la eficiencia alimentaria de las larvas de camarón, esta mezcla se compone de Ácido butírico 9%, Ácido heptanoico 8%, Ácido propiónico al 5%, Ácido caprico 0.1 %, Ácido caprilico 0.1% y Ácido láurico 0,1 % el cual forma un aditivo acidificante usado para la mejora de la eficiencia alimentaria de animales en sistemas de cultivos y criaderos.

Se realizaron recolecciones de muestras biológicas de forma aleatoria, colectando 9 muestras por estadio. Se realizaron observaciones microscópicas. Además, cada 2 días se llevará a cabo el muestreo para el análisis microbiológico: 3 muestras de Zoea III, 3 de Mysis III y 6 en PostLarva de estadio III y IX. Estas muestras fueron evaluadas a través de microscopía óptica para la salud larvaria con los objetivos 4X y 10X, lo que permitió obtener datos sobre el desarrollo, mejoras y posibles anomalías físicas de las muestras analizadas.

7.4. Diseño experimental

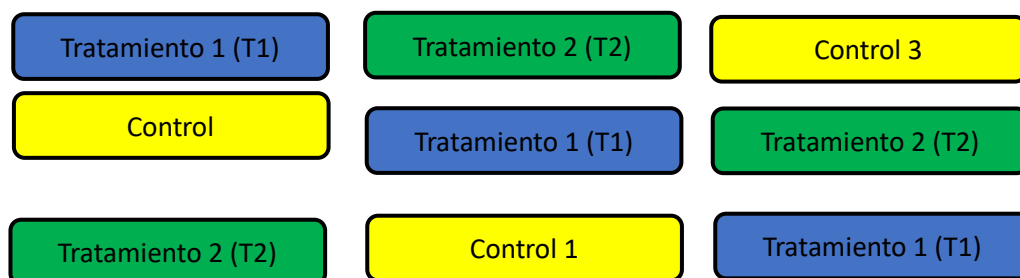
Los tanques de cultivo tuvieron una capacidad operativa de 18 toneladas; sin embargo, por protocolos internos de laboratorios esto tendrá una variación de operación entre 18 toneladas en promedio, destacando que esto dependerá de las condiciones del cultivo. Los tratamientos incluirán dos grupos con aditivos acidificantes y un control.

Cada tratamiento tuvo un total de 3 réplicas durante 3 ciclos productivos, estos tratamientos empleados fueron: 3 control, tratamiento 1 (T1) aditivo acidificante, tratamiento 2 (T2) aditivo acidificante y protocolo interno. La aplicación de los tratamientos se aplicó antes de la siembra de los nauplios para obtener un medio preparado para la siembra; el ciclo de cultivo duró 18 días.

Las dosis suministradas se fueron modificando diariamente según la ficha técnica del producto y las cargas bacterianas y salud larval, el tratamiento fue aplicado cada 12 horas, lo que

permitió obtener una inhibición de bacterias patógenas, mejor absorción de alimento y efecto aditivo que tendrá el producto.

Figura 6: Diseño de tratamientos a evaluar en el bioensayo, distribución y representación de los tanques de cultivo.



Nota: Presentación de tratamientos en un diseño experimental acoplado al modelo del bioensayo con sus respectivas réplicas, T1 acidificante (azul / dosis baja), T2 acidificante (verde / dosis alta) y control.

7.5. Toma de muestras

Para los análisis microbiológicos se tomó muestras de los estadios Nauplios, Zoea 3, Mysis 3 y Postlarva (3 y 6) donde se utilizó un tamiz de 100 micras para una mejor extracción de las muestras, las cuales serán colocadas en fundas plásticas rotuladas para su debido transporte a la sala de análisis microbiológicos.

Luego, para el muestreo in situ y microscopio se utilizó una bandeja de 2 litros color blanca para una mejor apreciación de los organismos, los cuales fueron extraídos con un colador y visualizados en placas portaobjetos para revisión microscópica, esto se realizó durante los 18 días de cultivo, tres ciclos productivos y 5 días de muestreo microbiológico por cada ciclo productivo.

7.6. Preparación de la muestra.

Para un correcto procedimiento estandarizado de las muestras que se tomó de los tanques de tratamientos, se recolectó un gramo de cada muestra mediante un cedazo correctamente esterilizado, las muestras fueron lavadas con agua destilada, para después utilizar una pinza desinfectada mediante un flameado constante, se tomara la muestra y se colocara en 1 tubo Eppendorf hasta alcanzar un

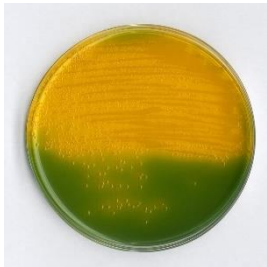
gramo neto dentro del tubo, la muestra se procederá a introducir en una cámara de flujo laminar para macerar la muestra y diluir las muestras en una solución salina de 9 ml de agua esterilizada, con y sin sal, dependiendo de la salinidad a la que se encuentren los cultivos larvarios (Anzoátegui, 2022).

7.7. Análisis microbiológico.

La siembra en agar TCBS permitió aislar y cuantificar las bacterias sucrosas positivas (amarillas) y las bacterias sucrosas negativas (verdes). Se preparará con una fiola de 200 ml de agua destilada esterilizada; se pesará un total de 17.70 g de agar TCBS en polvo, adicionando cloruro de sodio; se llevará a una estufa donde alcanzará el punto de ebullición del agar. (BioMerux, 2018).

Las muestras fueron sembradas en medios de cultivo selectivos para aislar y cuantificar los tipos de *vibrios* presentes en los cultivos larvarios, CETRIMIDE y CHROMOAGAR aplicando el método de vertido en profundidad con una serie de diluciones que irán de 1:100 y 1:1000, como se describe en el método investigativo de (Caja,2022).

Tabla 1: Diferentes agares selectivos para siembras microbiológicas

ChromoAgar	Agar Cetrimide	Agar TCBS
		

Nota. Los agares selectivos permiten aislar e identificar bacterias patógenas (Agar centrimide - *Pseudomonas*), (Agares TCBS y ChromoAgar - *Vibrios*) (Biomex, 2023).

Las placas, una vez sembradas, fueron incubadas a una temperatura controlada durante 24 horas, tras lo cual, en promedio crecieron las colonias de bacterias patógenas. Una vez concluido este periodo, se procederá a contar las colonias en UFC/ml y a identificarlas (Anzoátegui, 2022).

7.8. Salud larvaria

Para el control de la salud de larvas y postlarva se utilizó una guía de categorización de los parámetros óptimos en severidad en una escala de 0 identificado como categorización leve y 4 como la categorización más grave , la cual se realizara mediante visualización de larva en microscópico en el cual se observara necrosis branquial, opacidad muscular, condición del hepatopáncreas, deformidades y cromatóforos, estas observaciones permitirán identificar alguna anomalía que este afectando el cultivo larvario, esto se registrara y corregirá respectivamente (Mendoza, 2024).

Tabla 2: Escala de observaciones de salud larvaria.

Observaciones	Escala	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Necrosis	0-4	0-4	0-4	0-4
Opacidad	0-4	0-4	0-4	0-4
C. Hepatopáncreas	0-4	0-4	0-4	0-4
Deformidades	0-4	0-4	0-4	0-4
Cromatóforos	0-4	0-4	0-4	0-4

Nota: Las escalas de salud de las larvas, mediante observación microscópica, donde 0 indica ausencia de estos indicadores y 4 un alto nivel de presencia en las larvas, proporcionadas por Mendoza 2025.

7.9. Variables productivas.

Los parámetros zootécnicos en la larvicultura (supervivencia) fueron utilizados para medir el rendimiento y eficiencia de los organismos dentro del sistema de producción al cual se aplicaron los diferentes tratamientos, estas medidas permitieron analizar las condiciones de cultivos o en tal caso verificar si los tratamientos tuvieron un efecto positivo durante los ciclos productivos (Loqui, 2021).

7.10. Supervivencia.

La supervivencia permitió medir y calcular a través del número de siembra inicial, dividido para el número total de individuos obtenidos al final de cada ciclo productivo (Mirabent et al., 2020).

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

7.11. Estadística

El procesamiento de los datos se ejecutó en un enfoque bioestadístico secuencial adaptado a cada objetivo específico mediante el programa PRIMER. Las cargas bacterianas y los puntajes del Índice de Salud Larvaria se evaluaron primero con la prueba de **Shapiro-Wilk**; al confirmarse una distribución no paramétrica, se aplicó la prueba de **Kruskal-Wallis** para verificar diferencias entre tratamientos discretos. Posteriormente, para modelar el efecto del producto de forma continua, se empleó el análisis de **correlación de Spearman** que midió la fuerza y selectividad antimicrobiana sobre cada género bacteriano, proyectando la reducción de los vibrios totales mediante **regresión lineal**. Para la condición sanitaria integral, que unió múltiples variables cualitativas microscópicas, se utilizó estadística multivariada avanzada mediante la prueba de **PERMANOVA** basada en distancias de similitud para aislar el efecto profiláctico frente al ruido ambiental. Finalmente, los porcentajes de supervivencia se analizaron con un **ANOVA de dos vías** para separar el efecto del tratamiento del factor temporal, aplicando la prueba de **Tukey** para identificar la dosis con mayor eficiencia biológica y viabilidad económica.

CAPITULO IV

8. RESULTADOS

8.1. Análisis de carga bacteriana

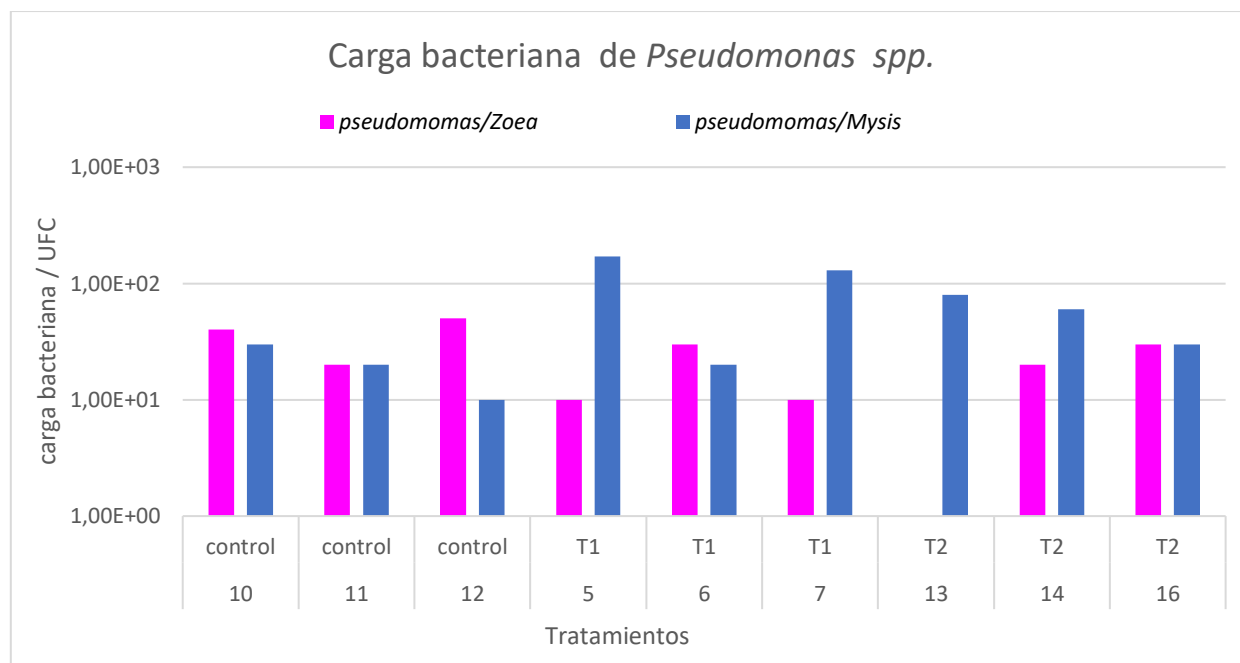
Durante este trabajo se analizaron, a nivel *in vitro*, patógenos asociados a los sistemas de cultivo, como *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *Pseudomonas*, a excepción de *V. parahaemolyticus*, que no presentó crecimiento en ninguna de las muestras analizadas, las cuales mostraron variaciones en cada ciclo productivo. Estas muestras fueron sembradas en agar Centrimide, ChromoAgar y TCBS.

8.2. Carga bacteriana *Pseudomonas spp*: Primer ciclo productivo

Zoea- Mysis

En la primera etapa de cultivo se destaca que en el T1 6, el tratamiento de 2 g/tn mostró una carga bacteriana superior de *Pseudomonas* de $1.7E+02$ en Mysis, a diferencia del estadio zoea, donde presentó una carga bacteriana de $1.0E+01$. Además, el T2 13 inició con una carga de cero durante el estadio zoea; en Mysis, la carga bacteriana aumentó significativamente hasta $8.0E+01$. Por otra parte, los tanques control mostraron cargas de (C1 10 : $4.0E+01$; C2 11: $2.0E+01$; C3 12: $5.0E+01$). Estos resultados están dentro de los rangos óptimos de carga bacteriana permitida dentro de los sistemas de cultivo, sin embargo, se debe mantener una dosis o inclusive aumentar las dosis de tratamientos aplicados para así evitar una proliferación masiva en los sistemas de cultivo, el tratamiento T2 inició una carga cero, debido a esto, se considera que las dosis aplicadas son óptimas para el control en esta etapa inicial.

Figura 7: Cuantificación de carga bacteriana de *Pseudomonas* en estadios Zoea-Nauplio.

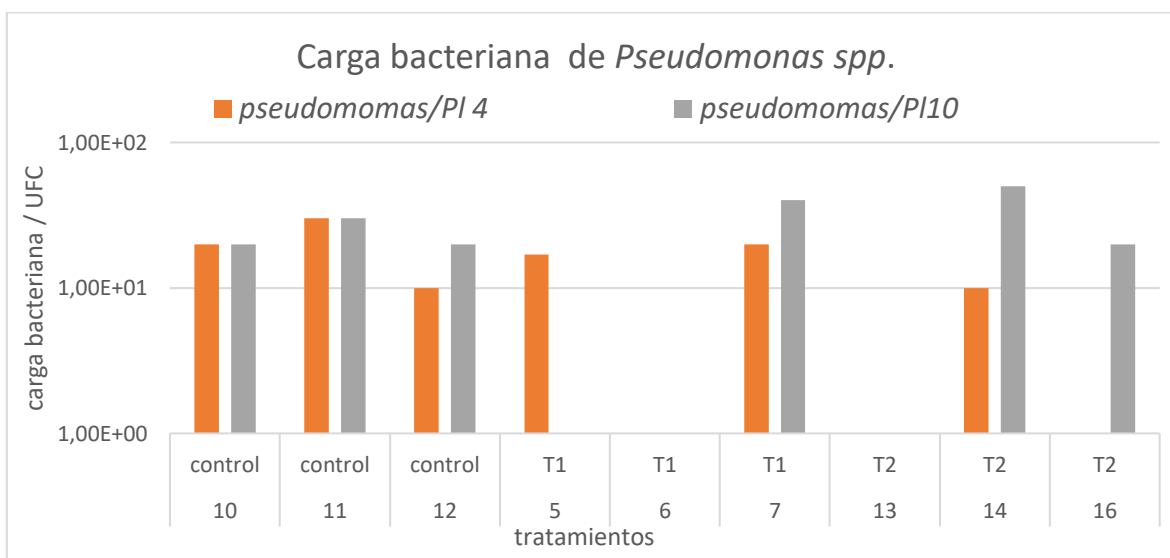


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar centrimide (*Pseudomonas*) correspondientes a estadio Zoea – Mysis tanto en controles como T1 y T2.

Postlarva 4 – 10

En los siguientes estadios se pudo observar que los tanques de control 10, 11 y 12 presentaron cargas similares de 2.0E+01 UFC, 3.0E+01 UFC y 1.0E+01 UFC en postlarva 4 manteniendo las cargas bacteriana hasta postlarva 10, sin embargo, los tratamiento T1 5 mostró una carga de 1.7E+01 UFC en postlarva 4, en postlarva 10 no mostró carga bacteriana al igual que el T1 6 y T2 13 que no presentó carga bacteriana en ni uno de los dos estadios, también los tratamiento T1 7 y T2 14 presentaron una carga bacteriana elevada en estos estadios que fueron 4.0E+01 UFC, 5.0E+01 UFC respectivamente, esto nos muestra un cambio significativo que alteró la proliferación bacteriana, se procedió a continuar con una dosificación mayor a la que el protocolo indicaba.

Figura 8: Cuantificación de carga bacteriana de *Pseudomonas* en estadios Pl 4 – 10

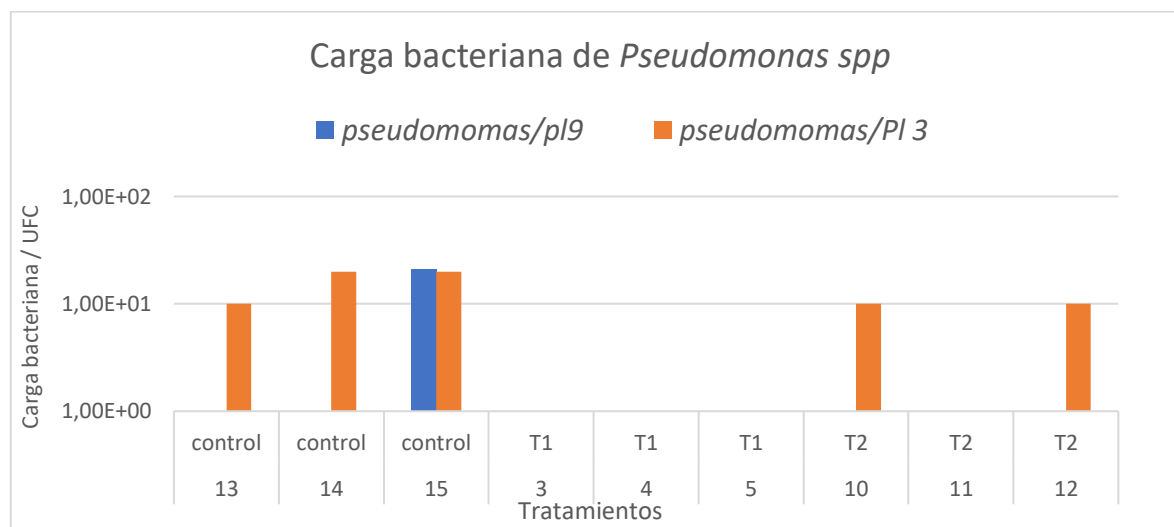


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar centrífugo (*Pseudomonas*) correspondientes a estadio Pl4 – Pl 10 tanto en controles como en T1 y T2.

8.3. Carga bacteriana *Pseudomonas* spp: Segundo ciclo productivo

En este ciclo se mostró una diferencia significativa, debido a que se procedió desde un inicio a colocar una dosis superior a la inicial, aplicándolo desde antes de la siembra por lo que en los primeros estadios no se observó crecimiento en las placas de cultivo, sin embargo en los estadios superiores se observó presencia de *pseudomona* en los controles 13,14 y 15, principalmente el C1 15 mantuvo una carga bacteriana de 2.0E+01 UFC A 2.1E+01 UFC desde pl 3 – 9, las tres réplicas de T1 (3, 4,5) se mantuvieron libres de *Pseudomonas* durante todos los estadios debido a la dosificación y a las condiciones del cultivo, no obstante en T2 (10 y 12) se presentó un carga bacteriana de 1.0E+01 esto nos indicó que a pesar de la dosis aplicada en cada estadio hubo crecimiento de colonias de *Pseudomonas* que pudo deberse a factores externo como calidad de agua o sólidos suspendidos en el sistema de cultivo de los tanques T2, debido a este crecimiento, se aplicó una dosis correctiva, ya en el estadio postlarva 9 no se presentó un crecimiento en T2 10 Y 12.

Figura 9: Cuantificación de carga bacteriana de *Pseudomonas* en el estadio PL 3 – 9.

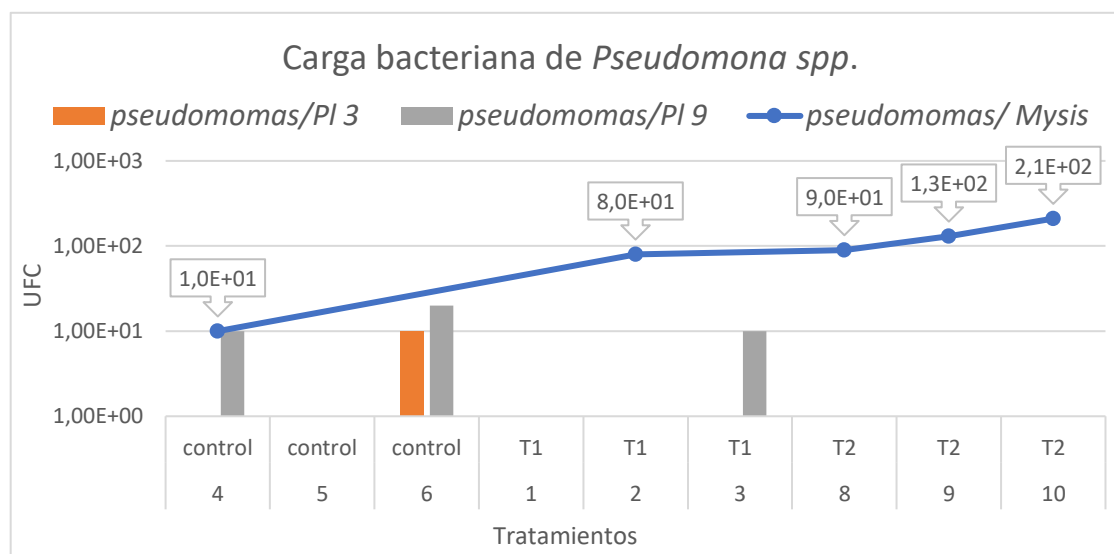


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar centrímide (*Pseudomonas*) en el segundo ciclo productivo correspondientes a estadio Pl 3 – Pl 9 tanto en controles como T11 y T2.

8.4. Carga bacteriana *Pseudomonas* spp: Tercer ciclo productivo

Es importante evaluar las condiciones de los cultivos durante todo el ciclo productivo, las condiciones iniciaron con cero cargas bacterianas de *Pseudomonas*, en mysis se presentaron las cargas más altas con: T1 2 : 8.0E+01 UFC; T2 8 : 9.0E+01 UFC ; T2 9 : 1.3E+02 UFC ; T2 : 2.1E+02 UFC esto da a conocer que en este estadio Mysis la proliferación de bacterias *Pseudomonas* es alta, por el contrario en los estadios superiores pl 3 – 9 no se observó crecimiento de *Pseudomonas* a excepción de T1 3 que presentó una carga baja de 1.0E+01 UFC lo que se encuentra de los rangos óptimos para el cultivo, por otra parte los controles 4, 5 y 6 a pesar de iniciar con cero carga bacteriana mostró un evidente crecimiento en durante el ciclo productivo, la carga más alta fue de 2.0E+01 UFC hasta 1.0E+01 UFC en los C4 Y C6. Estos resultados demuestran que la proliferación de *Pseudomonas* fue más evidente en el estadio mysis ya que en estadios inferiores no se observó carga bacteriana, mientras que los estadios superiores se evidenció una carga leve dentro del rango aceptable en los sistemas de cultivo.

Figura 10: Cuantificación de carga bacteriana de *Pseudomonas* en estadios Mysis - Pl 3 – 9.



Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar centrimide (*Pseudomonas*) en el tercer ciclo productivo correspondientes a estadio Mysis – Pl 3 – Pl 9 tanto en controles como T1 y T2.

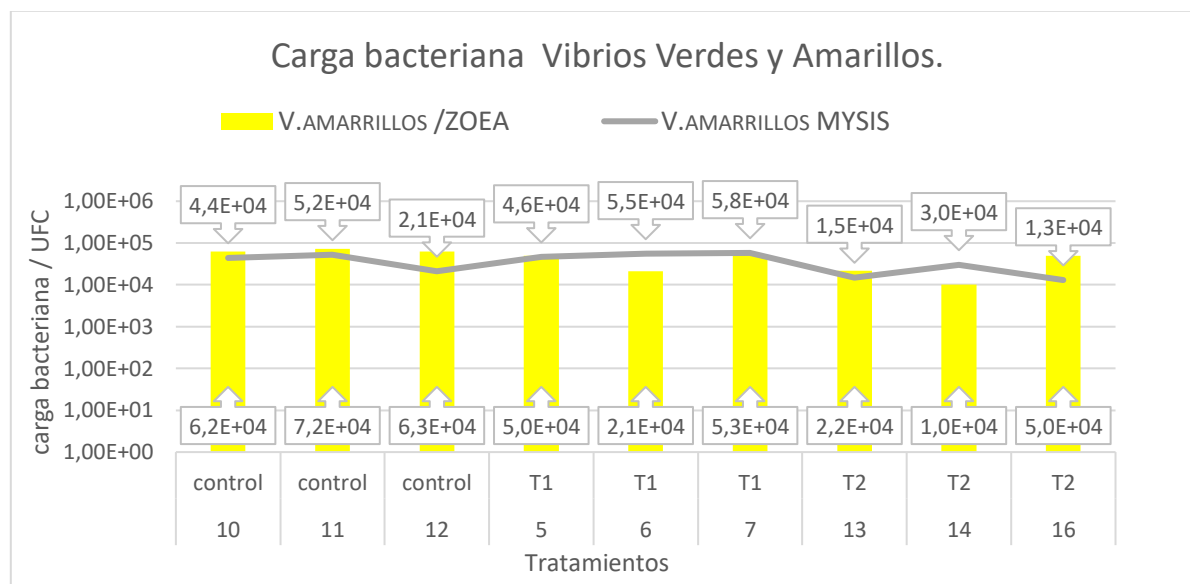
8.5. Carga bacteriana Vibrios Verdes y amarillos: primer ciclo productivo

Nauplio- Mysis

Durante el primer ciclo productivo, se observó que las cargas patógenas de *Vibrio* verde estuvieron totalmente ausentes desde el estadio Zoea hasta Mysis; sin embargo, las cargas bacterianas de *Vibrio* amarillo se presentaron en 6.2E+04 UFC en C1 10; 7.2E+04 UFC en C1 11; 6.3E+04 UFC en C1 12 que a diferencia de los tratamientos, que reflejaron cargas inferiores de 5.0E+04 UFC en T2 16; 5.0E+04 UFC en T1 5 lo que supera los rangos óptimos de manejo de carga bacteriana, no obstante en los tratamientos se presentaron cargas inferiores y muy marcadas como T1 6 con 2.1E+04 UFC y T2 14 con 1.0E+04 UFC, estos presentan un mismo exponente, pero con una carga muy baja, esto indica que en una dosis superior a la de T1 es efectiva para el control de vibrios amarillos. En estadio Mysis se ve una diferencia debido a que en este estadio la dosis fue mayor ya que el T2 12 presentó una carga de 1.3E+04 UFC; T2 13 con una carga de 1.5E+04 UFC, lo que marca una

diferencia con los controles lo que es indicativo de que a pesar de que tienen las mismas condiciones la diferencia es significativa gracias al protocolo implementado.

Figura 11: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadios Zoea – Mysis.



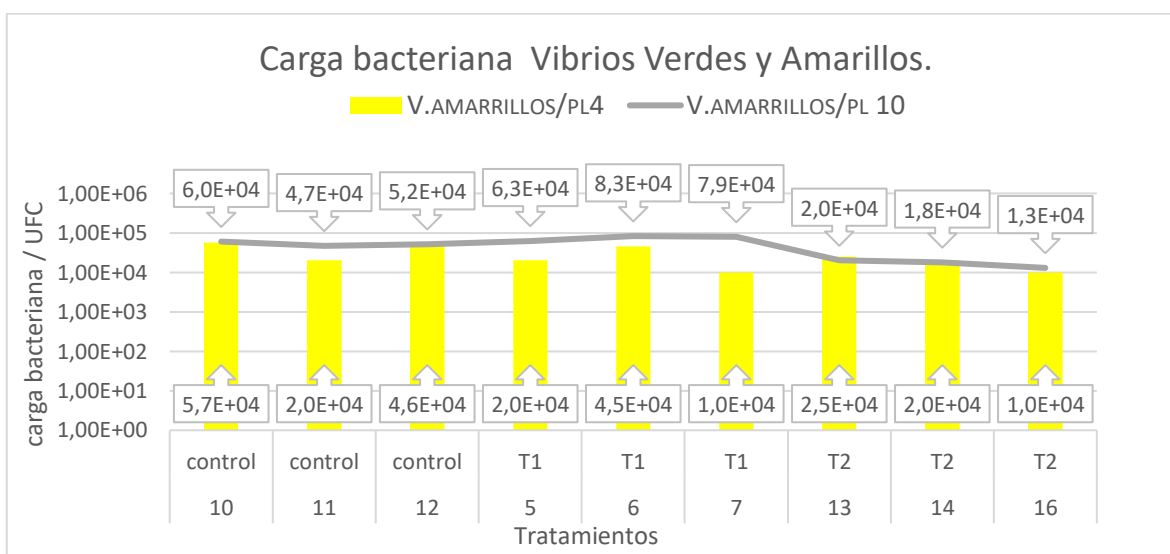
Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar TCBS (vibrios verdes y amarillos) en primer ciclo productivo correspondientes a estadio Zoea – Mysis tanto en controles como T1 y T2.

Estadio Postlarva 4- 10

Durante el estadio Postlarva se pudo observar que el T2 mostró una carga inferior de $1.0E+04$; $2.0E+04$; $2.5E+04$ observando que las cargas bacterianas se mantuvieron en estos estadios, por otro lado los T1 tuvieron cargas similares de $2.0E+04$; $1.0E+04$, a excepción de T1 6 con una carga de $4.5E+04$, lo que llevó a hacer énfasis en ese tratamiento, respetivamente los tanques control arrojaron cargas de $5.7E+04$ UFC en c1 10; $2.0E+04$ UFC en C1 11 y $4.6E+04$ UFC en c1 12 lo que indica una carga superior a los tratamientos, lo que presentó en el estadio Postlarva 10 en el tratamiento 1 que mostró cargar de $7.9E+04$ UFC en T1 7 y $8.3E+04$ UFC en T1 6, lo que a diferencia de los controles donde se registró cargas de $6.4E+04$ UFC; $4.7E+04$ UFC ; $5.2E+04$ UFC lo que está dentro de los

rangos óptimos para operar, sin embargo, el T2 si mostró un diferencia significativa con cargas inferiores a T1 y controles, cargas bacterianas de vibrios amarillos como: 2.0E+04 UFC en T2 13; 1.8E+04 UFC en T2 14 y 1.3E+04 UFC en T2 16, esto no solo puede afectar la supervivencia si no también en bus desarrollo de los camarones; no obstante en este estudio se observaron cargas inferiores a E+05, evitando una proliferación masiva de bacterias y afectación a la salud larvaria dentro del sistema de cultivo.

Figura 12: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadio Pl 4 – 10.



Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar TCBS (vibrios verdes y amarillos) en primer ciclo productivo correspondientes a estadio Pl 3 y Pl 10 tanto en controles como T1 y T2.

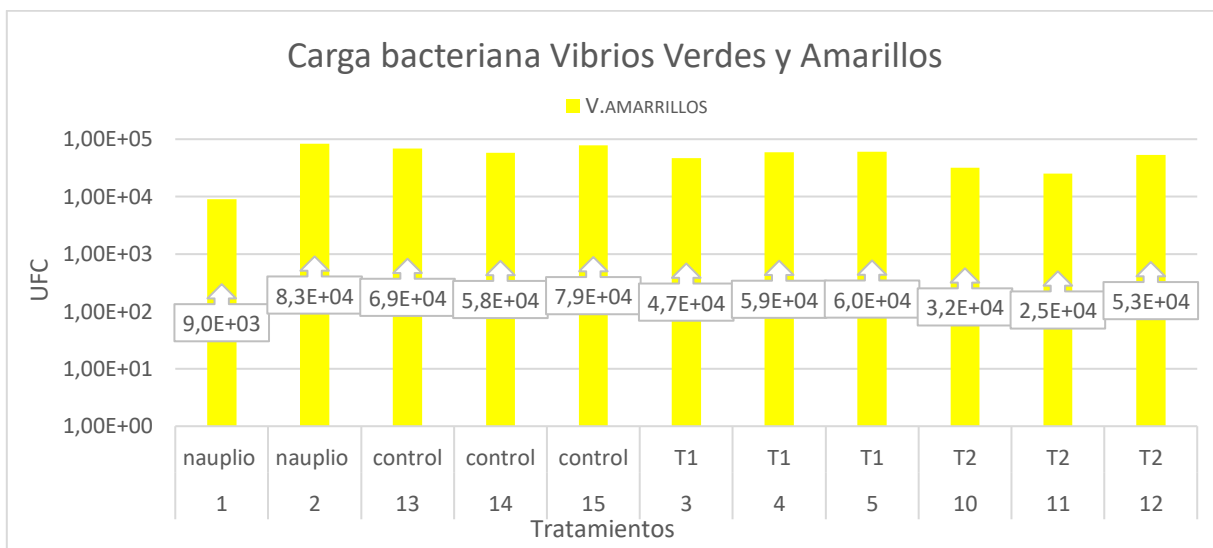
8.6. Carga bacteriana Vibrios Verdes y amarillos: Segundo ciclo productivo

Nauplio – Mysis

Durante el segundo ciclo productivo se inició con una carga elevada de 8.3E+04 UFC y 9.0E+03 UFC en nauplio; por consiguiente en el siguiente muestreo en el T2 se observaron cargas de 3.2E+04 UFC en T2 10; 2.5E+04 UFC en T2, siendo las cargas más bajas durante este estadio, por

otro lado los tratamiento T1 3 con $4.7E+04$ UFC y T1 4 con $5.9E+04$ UFC cargas que se encuentran dentro del rango aceptable, no obstante el control mostró carga relativamente altas de $8.3E+04$ UFC en el C 13 siendo esta la mayor carga registrada durante este estadio, lo que indica una aumento significativo con respecto al muestreo de nauplio de $8.3E+04$ UFC.

Figura 13: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadios Nauplio – Mysis.



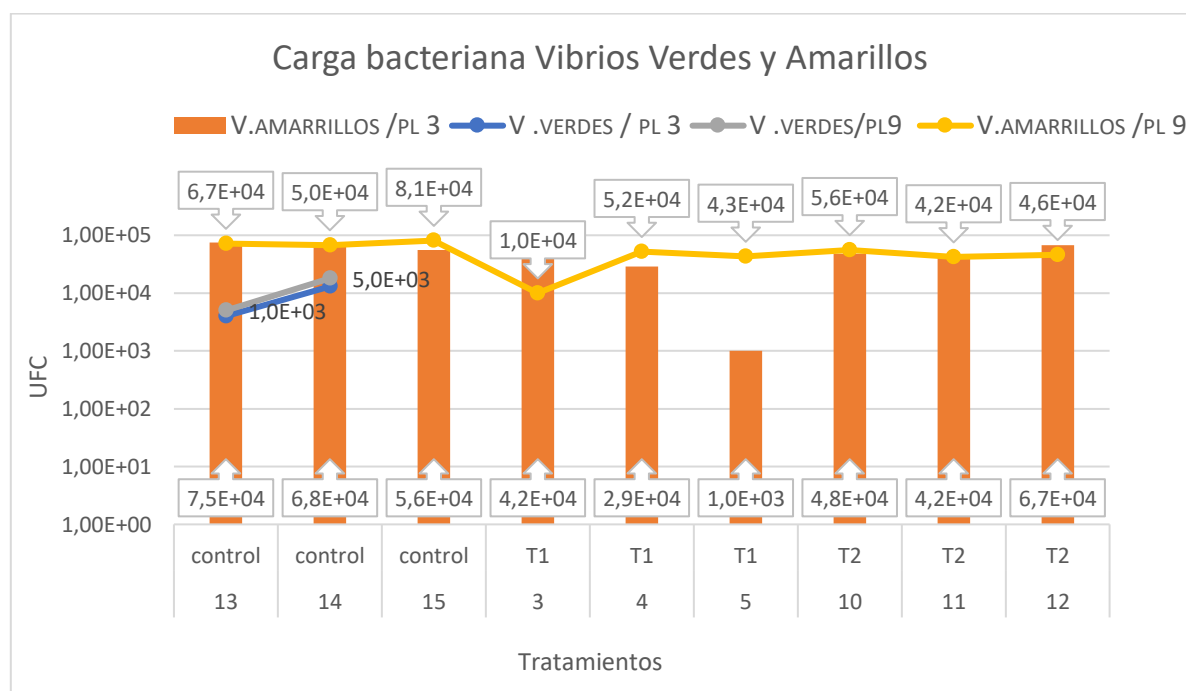
Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar TCBS (vibrios verdes y amarillos) en segundo ciclo productivo correspondientes a estadio Nauplio – Mysis tanto en controles como T1 y T2.

Estadio Postlarva 3 – 9

Por otro lado en los estadios superiores, por primera vez se presentaron colonias de Vibrios verdes en los controles con cargas de $4.0E+03$ UFC en control 13 y $1.3E+03$ UFC en control 14, además se registró bacterias de Vibrios amarillos en el cual destaca el T1 con una carga de $1.0E+03$ UFC y T1 4 con $2.9E+04$ UFC, además se encontró cargas bacterianas elevada en los controles C1 13,14 y 15 con cargas de 6.7 , 5.0 , $8.1 E+04$ lo cual indica que se aumentar la dosificación tanto de protocolo interno de laboratorio, ya que los valores se encuentran dentro de los rangos óptimos, de esta manera, se puede mantener las cargas bacterianas controladas, respectivamente en pl9 seguíamos manteniendo la carga de vibrios verdes en los mismos controles 13 y 14 con cargas de $1.0E+03$ y

5.0, además se observa que la presencia de bacterias se encuentra dentro de los rangos óptimos donde T2 10,11,12 presentan cargas de $5.6E+04$ UFC , $4.2E+04$ UFC , $4.6E+04$ UFC. Siendo el T1 3 con la menor presencia de $1.0E+04$ UFC seguido de T1 5 con $4.3E+04$ UFC, esto indica que el uso de acidificantes controla la carga bacteriana de vibrios amarillos e inhibe la presencia de vibrios verdes dentro del sistema de cultivo.

Figura 14: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadios Pl 3- 9.



Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar TCBS (vibrios verdes y amarillos) en segundo ciclo productivo correspondientes a estadio Pl 3 y Pl 9 tanto en controles como T1 y T2.

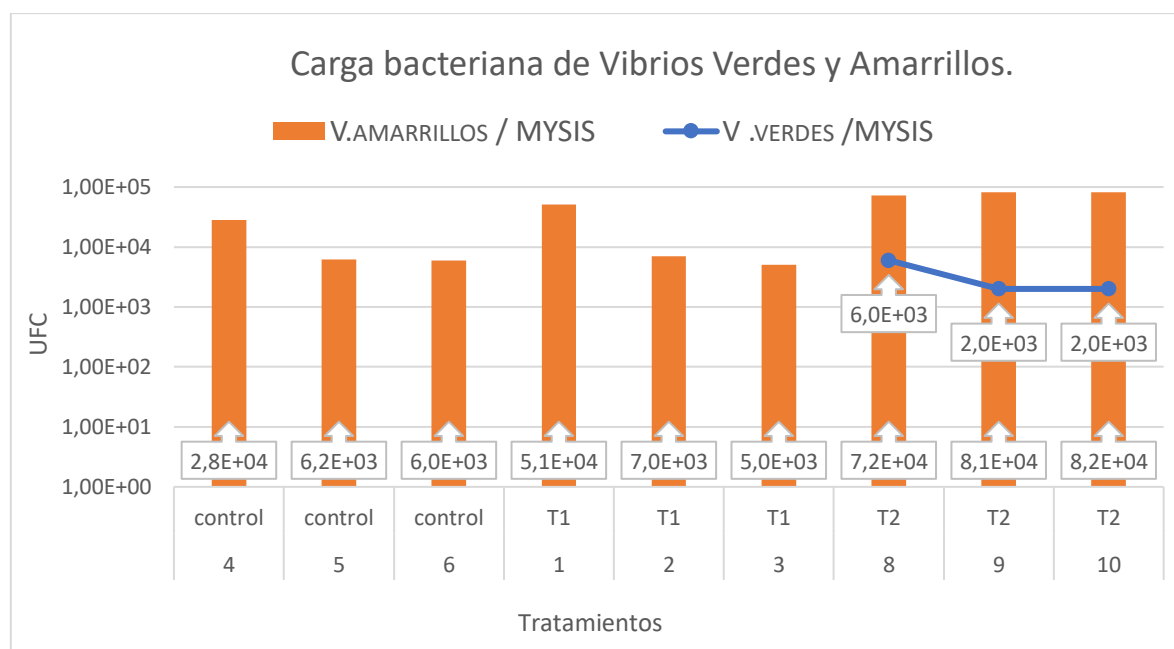
8.7. Carga bacteriana Vibrios verdes y amarillos: tercer ciclo productivo

Nauplio - Mysis

Durante el tercer ciclo productivo se presentó una carga inicial en el estadio nauplio de $3.2E+04$ de vibrios amarillos con una ausencia de vibrios verdes, no obstante en el muestreo Mysis se pudo

observar un aumento significativo de vibrios amarillos en el T2 10 con $8.2E+04$ UFC, T2 9 con $8.1E+04$, T2 8 con $7.2E+04$ UFC, además de presencia de vibrios verde en las tres réplicas de T2 8 con $6.0E+03$ UFC y $2.0E+03$ UFC en las siguientes replicas lo que puede provocar una disminución en la supervivencia e inclusive una mortalidad temprana, por lo que se corrigió una dosificación de probióticos y acidificantes en T2, respectivamente en T1 y control no hubo presencia de vibrios verdes, sin embargo la presencia de vibrios amarillos dentro del rango óptimos, en este estadio resalta el T1 3 en una carga de $5.0E+03$ UFC y control 6 con $6.0E+03$ UFC.

Figura 15: Cuantificación de carga bacteriana de Vibrios Verdes y Amarillos en estadio Nauplio - Mysis



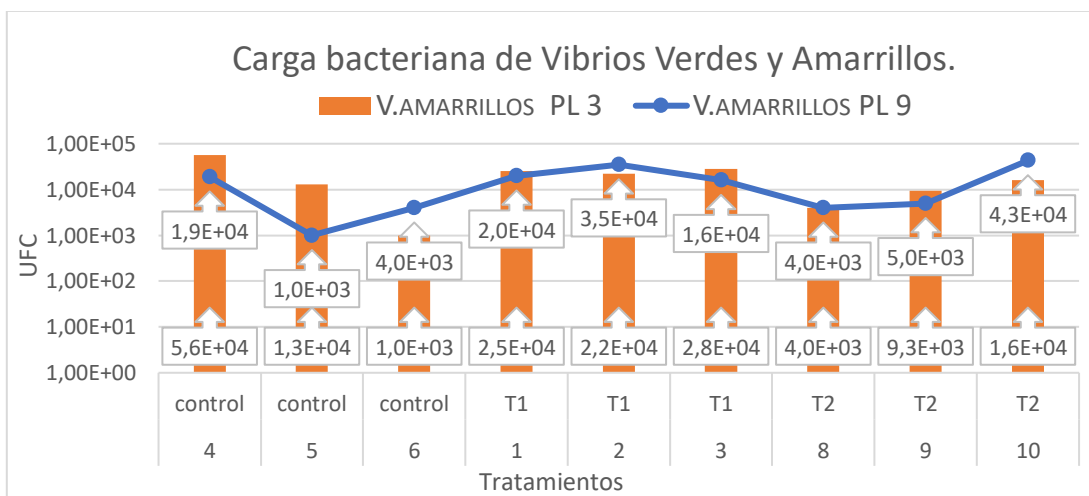
Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar TCBS (vibrios verdes y amarillos) en tercer ciclo productivo correspondientes a estadio mysis tanto en controles como T1 y T2.

Estadíos postlarva 3-9

Aquí, en el estadio postlarva, no se observó presencia de vibrios verdes. Además, en el estadio de pl 3, los tratamientos T2 9 y 8 presentaron cargas de $9.3E+03$ y $4.3E+03$ UFC, siendo estas las cargas más bajas del estadio, al igual que el control 6, con una carga de $1.3E+03$

UFC, en comparación con T1, que presentó cargas de 2.5E+04, 3.5E+04 y 2.8E+04 UFC. Respectivamente, en el estadio pl 9, los T2 8 y 9 mantuvieron sus cargas; sin embargo, T2 10 mostró un incremento de carga con 4.3E+04 UFC. Respectivamente, las cargas bacterianas se mantuvieron en los rangos óptimos de operación, lo que no afectó el sistema de producción.

Figura 16: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrios Verdes* y *Amarillos* en estadios Pl 3 – 9.

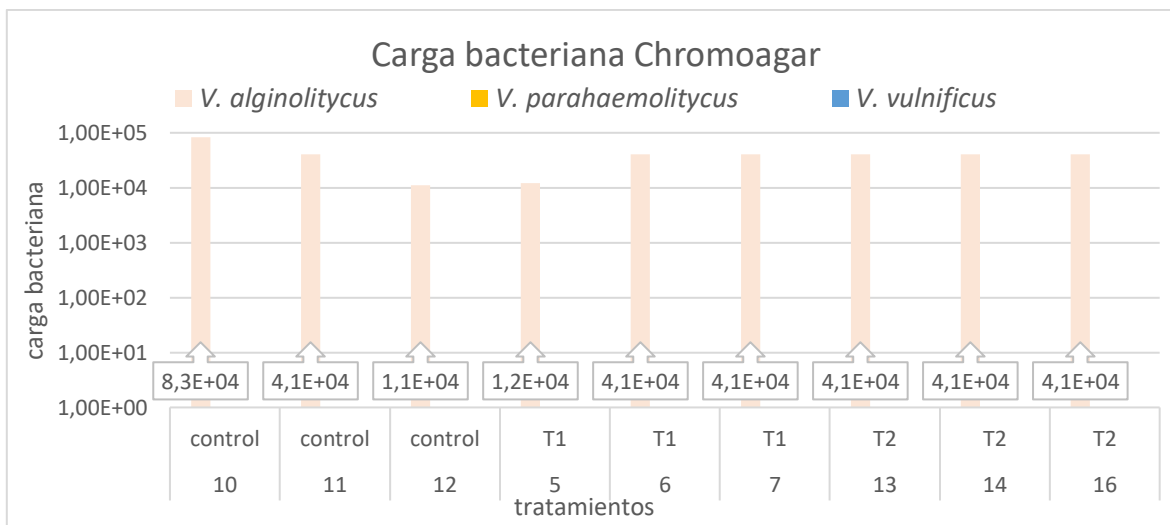


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar TCBS (*vibrios verdes* y *amarillos*) en tercer ciclo productivo correspondientes a estadio Pl 3 y Pl 9 tanto en controles como T1 y T2.

8.8. Carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*: primer ciclo productivo

Durante el primer ciclo productivo, en agar ChromoAgar no se observó un crecimiento de *Vibrios parahaemolyticus* y *vulnificus* en el estadio Zoea, no obstante, hubo una bacteria de *Vibrios alginolitus*, donde la carga de 4.1E+04 se presentó en el T1 (6,7) y T2 (13, 14, 15) la misma carga en cada tratamiento, además destaca el T1 5 con la carga más baja de 1.2E+04 UFC a comparación de los controles donde su mayor carga bacteriana de *Vibrios alginolitus* con 8.3E+04.

Figura 17: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadio Zoea.

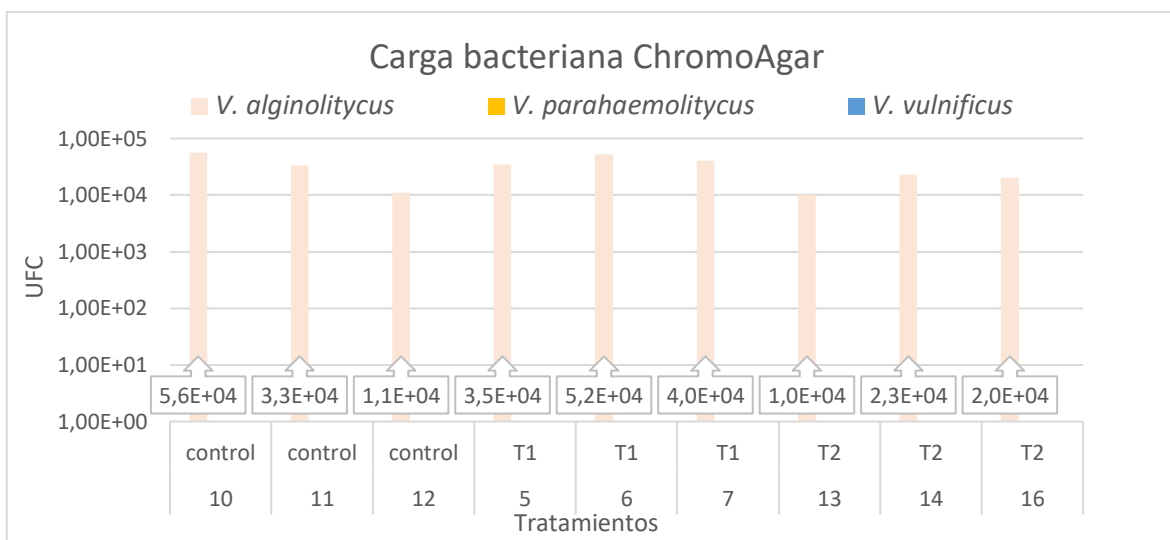


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en primer ciclo productivo correspondientes a estadio Zoea tanto en controles como T1 y T2.

Mysis

Durante el estadio mysis, no se presentó carga de *Vibrios parahaemolyticus* y *vulnificus* sin embargo, *Vibrios alginolyticus* estuvo presente en todos los tratamientos que presentaron carga de T2 13 1.0E+04 UFC ; T2 14 2.3E+04 UFC ; T2 16 2.0E+04 UFC, indicando que el tratamiento 2 está inhibiendo el crecimiento de *Vibrios alginolyticus*, además el t1 5 presentó una carga de 3.5E+04 UFC, estas cargas se han mantenido en el rango óptimo de operación por lo que la sinergia del acidificante está controlando la proliferación de bacterias de género vibrios las cuales en altas cargas provocan enfermedades, necrosis y mortalidad en un estadio considerado critico.

Figura 18: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadio Mysis.

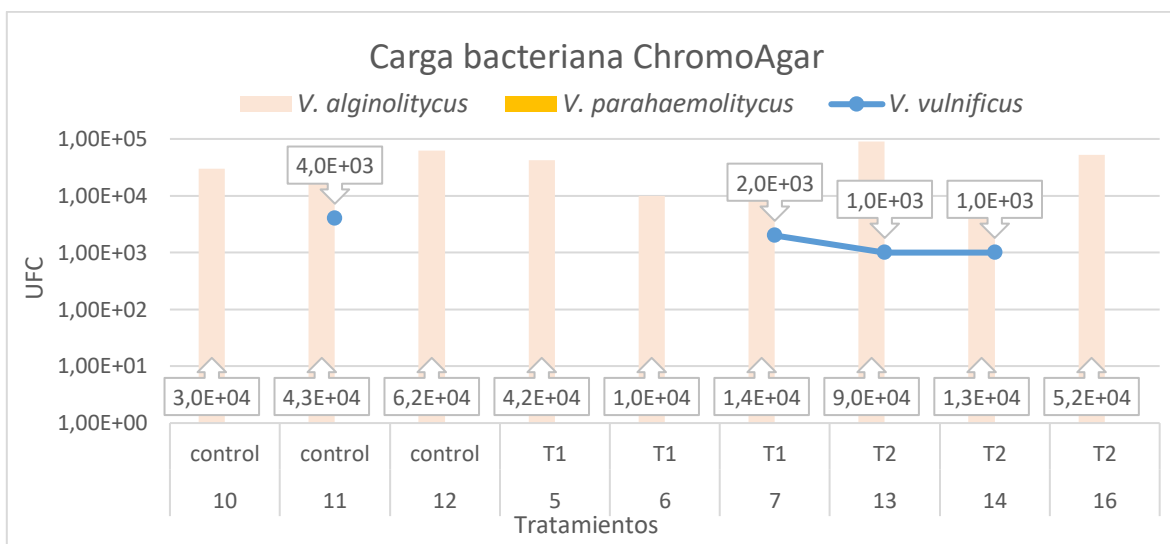


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en primer ciclo productivo correspondientes a estadio Mysis tanto en controles como T1 y T2.

Postlarva 4

En un estadio mayor el aumento de amonio, bajo oxígeno, alta densidad de siembra y mala calidad de agua son factores que influyen en el aumento de carga bacteriana por lo que en estadios como Postlarva se observaron *Vibrio vulnificus* en el control 11 con una carga de 403E+03 UFC, además en T1 7 con 2.0E+03 UFC incluyendo a los T2 13 y 14 con 1.0E+03 UFC, además la presencia de *vibrios alginolyticus* tuvo una mayor presencia en el T2 13 con una carga de 9.0E+UFC siendo esta la más alta de todos, no obstante la carga más baja fue detectada en T1 6 con una carga de 1.0E+04, la presencia de diferentes bacterias da a notar un desequilibrio en los parámetros de cultivo, sin embargo las cargas bacterianas se mantiene en el rango óptimo de cultivo.

Figura 19: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadio PL 4.

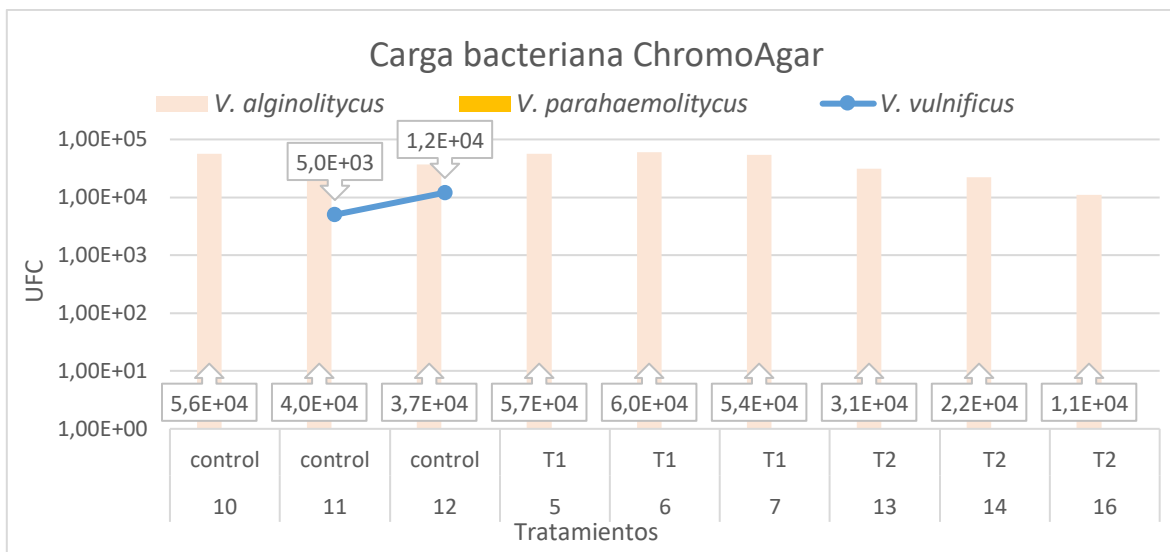


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en primer ciclo productivo correspondientes a estadio PL 4 tanto en controles como T1 y T2

Postlarva 9

En el último muestreo se detectó *vibrios vulnificus* en los tanques control 11 y 12 con 5.0E+03 y 1.2E+04 a diferencia de los tratamientos donde no se reveló, la carga bacteriana en *Vibrio alginolyticus* T1 5 y 7 mostraron cargas similares de 5.7E+04, por otro lado, la carga más baja se detectó en T2 16 con 1.1E+04 esto demuestra que los aditivos acidificantes no solo reducen la carga bacteriana si o que también mantiene la carga dentro de los rangos óptimos de cultivo.

Figura 20: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadio Pl 9.



Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en segundo ciclo productivo correspondientes a estadio Pl 9 tanto en controles como T1 y T2.

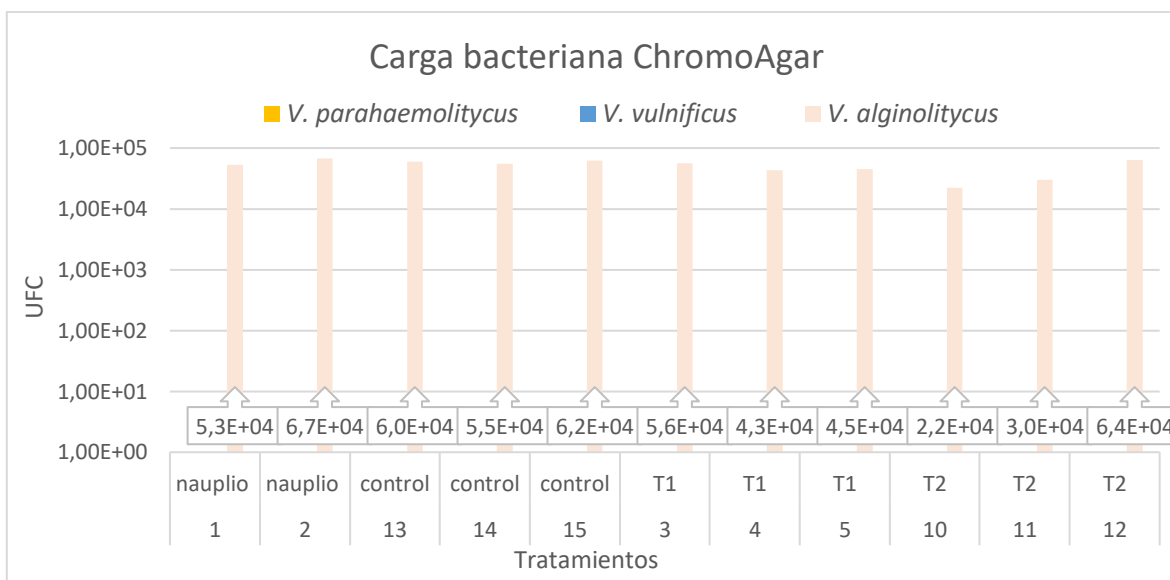
8.9. Carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*:

Segundo ciclo productivo

Nauplio - mysis

Durante el segundo ciclo se inició con una carga promedio de 5.9E+04 UFC en estadio nauplio con una total ausencia de otros tipos de *Vibrio*, por otro lado en el estadio Mysis se observó que T2 10 y 11 presentaron cargas de 2.2E+04 y 3.0E+04 las cargas más bajas registradas en este estadio, además de un aumento significativo en los controles donde su carga más alta llegó a 6.7E+04 UFC, los tratamientos 3,4,5 presentaron en promedios cargas de 4.6E+04 UFC en estadios Mysis esto puede provocar un desarrollo anormal en el sistema de cultivo causando lesiones y baja supervivencia.

Figura 21: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadios Nauplio – Mysis.

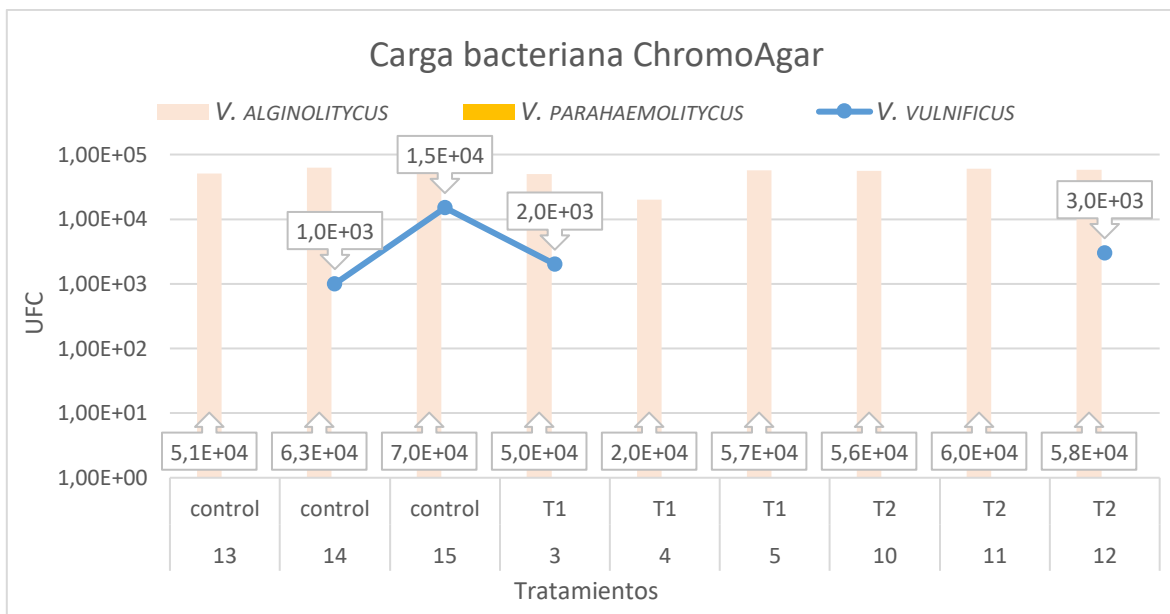


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en segundo ciclo productivo correspondientes a estadio Nauplio - Mysis tanto en controles como T1 y T2.

Postlarva 3

Según protocolos de manejo es indispensable controlar todos los aspectos dentro de cada sistema, ya que podría desencadenar una proliferación masiva de bacterias patógenas como en estadio Pl 3 donde se encontró cargas de *Vibrio vulnificus* en c 14 y 15 con 1.0E+03 y 1.5E+04 la carga más alta registrada, además en T3 una carga de 2.0E+03 acompañado de 5.0E+04 de *Vibrio alginolyticus* y T12 con una carga de 3.0E+03 y 5.8E+04, lo que es preocupante debido a que esta clase de *Vibrio* causa necrosis, septicemia y vibriosis lo que incide directamente en la calidad de agua, aumentando la mortalidad.

Figura 22: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadio Pl 3.

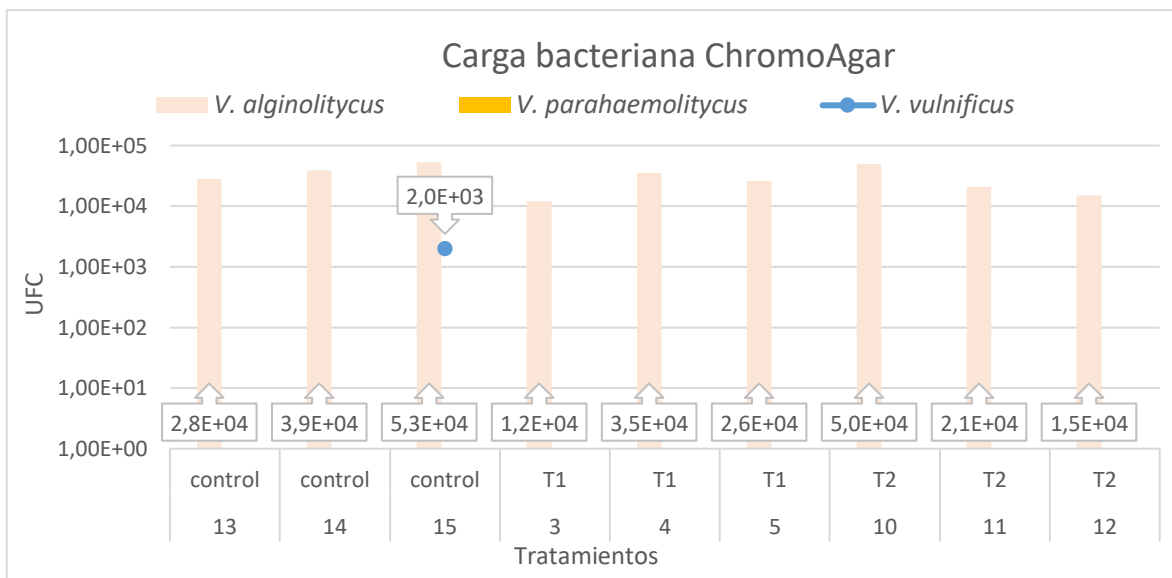


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en segundo ciclo productivo correspondientes a estadio Pl 3 tanto en controles como T1 y T2.

Postlarva 9

En este muestreo se constató que hay una total ausencia de *Vibrio vulnificus* en los tratamientos. En C3 se registró carga de 2.0E+03 de *Vibrio* antes mencionado, acompañada de una carga de *Vibrio alginolyticus* de 5.3E+04. También, en T1, con 1.2E+01, la carga más baja de este estadio. Esto resultados indican que el acidificante inhibe *Vibrio vulnificus* y controla la carga de *Vibrio alginolyticus*, manteniendo los rangos óptimos dentro de los cultivos.

Figura 23: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadio Pl 9.



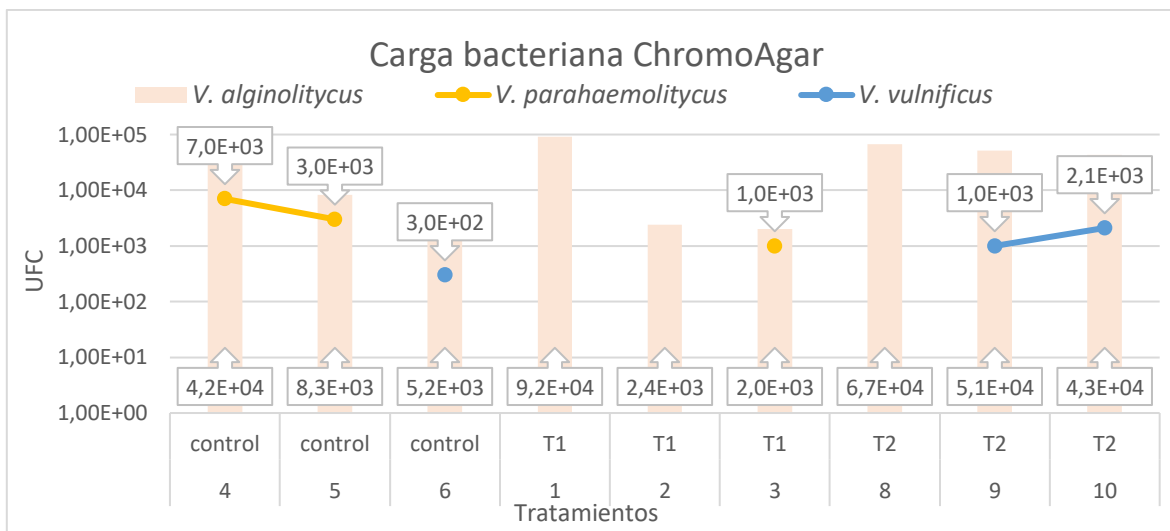
Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en segundo ciclo productivo correspondientes a estadio Pl 9 tanto en controles como T1 y T2.

8.10. Carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*: tercer ciclo productivo

Nauplio-mysis

Durante los primeros análisis se inició con 1.7×10^4 solo de *Vibrio alginolyticus*, luego en Misys se hubo una proliferación en ciertos tanques, debido a esto el T1 presentó una carga de 9.2×10^4 UFC la carga más alta registrada, el T3 presentó 1.0×10^3 de *Vibrio parahaemolyticus* y 2.0×10^3 de *Vibrio alginolyticus*, además en los controles se presentó una carga más elevada de *Vibrio vulnificus* con 7.0×10^3 y 3.0×10^3 en C 4 y C 5, respectivamente el T2 presentó la carga más alta registrada, esto es preocupante debido a que *vibrios parahaemolyticus* es causante del síndrome de la mortalidad temprana.

Figura 24: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadio Nauplio -Mysis.

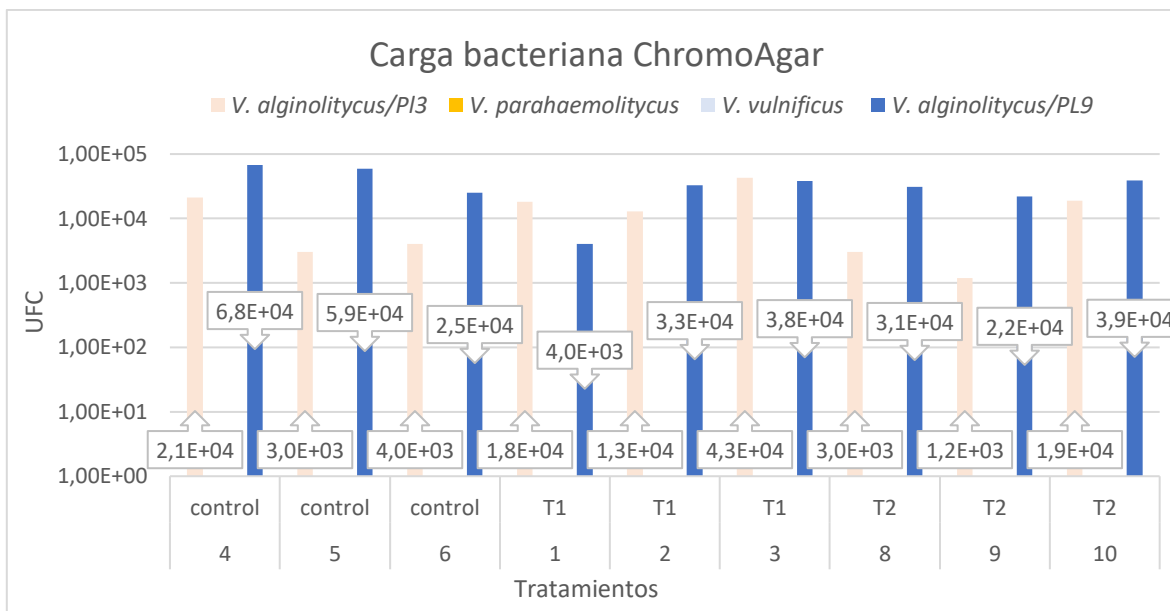


Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en tercer ciclo productivo correspondientes a estadio Pl 9 tanto en controles como T1 y T2.

Postlarva 3 – 9

Los tratamientos aplicados redujeron significativamente ya que al analizar la carga de *Vibrio alginolyticus* presentan una ligera disminución con respecto al control, en pl3 se registraron cargas de 6.8E+04 UFC en los tanques de control, a la vez se observó una reducción alcanzando 2.2E+04 UFC en T3, posteriormente se observa un ligero incremento de 3.9E+04 UFC en T4, por otra parte en Pl 9 *vibrios alginolyticus* presentó una carga de 5.9E+04 UFC en C3, además se redujo hasta 2.2E+04 UFC en T3, estas variaciones pueden estar asociadas a diversos factores del sistema de cultivo, sin embargo las cargas están dentro de los rangos permitidos.

Figura 25: Cuantificación de carga bacteriana de *Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus* en estadios Pl 3 – 9.



Nota: Representación gráfica de los valores en UFC/ml obtenidos en agar ChromoAgar (*Vibrio alginolyticus*, *parahaemolyticus* y *vulnificus*) en segundo ciclo productivo correspondientes a estadios Pl 3-9 tanto en controles como T1 y T2.

Los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Debido a que la mayoría de las variables no cumplieron el supuesto de normalidad ($p < 0.05$), se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para comparar los tratamientos, la variabilidad de los datos, arrojó valores de significancia mayores al umbral establecido ($p > 0.05$) para todas las variables microbiológicas analizadas de forma discreta: colonias verdes ($p = 0.136$), colonias amarillas ($p=0.107$), *Vibrio alginolyticus* ($p=0.426$), *Vibrio parahaemolyticus* ($p = 0.351$), *Vibrio vulnificus* ($p = 0.183$), *Pseudomonas* spp. ($p=0.225$) y *Vibrios* totales ($p=0.124$). Esto indica que, al comparar los tratamientos como compartimentos aislados en momentos fijos, las variaciones numéricas a la baja registradas en los tratamientos acidificados (T1 y T2) con respecto al Control no presentan una diferencia estadística significativa. Esto se atribuye directamente a la alta variabilidad y desviación

estándar naturales de la microbiota presente en la columna de agua entre las diferentes réplicas evaluadas (n = 30).

Tabla 3: Carga bacteriana (Log UFC mL⁻¹) registrada en los diferentes tratamientos.

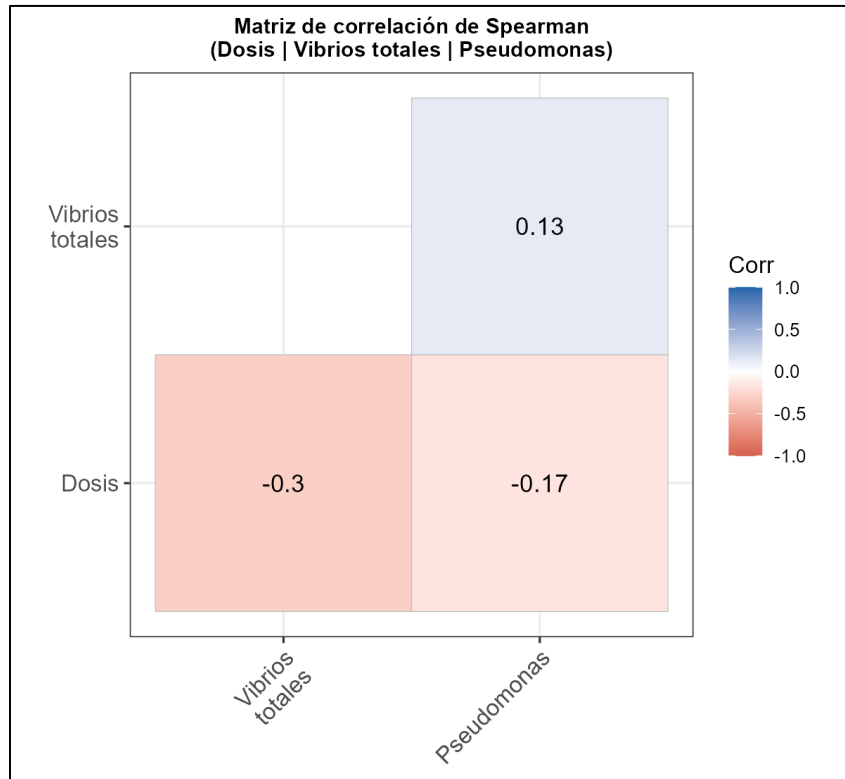
Patógeno	Control	T1	T2	χ^2	p
Colonias verdes	0.48 ± 1.25	0.00 ± 0.00	0.35 ± 1.06	3,995	0.136
Colonias amarillas	4.48 ± 0.54	4.45 ± 0.42	4.38 ± 0.38	4,468	0.107
<i>V. alginolyticus</i>	4.49 ± 0.39	4.41 ± 0.42	4.42 ± 0.40	1,705	0.426
<i>V. parahaemolyticus</i>	0.24 ± 0.93	0.10 ± 0.55	0.00 ± 0.00	2,092	0.351
<i>V. vulnificus</i>	0.81 ± 1.52	0.22 ± 0.84	0.53 ± 1.20	3,400	0.183
<i>Pseudomonas spp.</i>	0.85 ± 0.63	0.54 ± 0.77	0.68 ± 0.84	2,982	0.225
Vibrios totales	4.85 ± 0.37	4.78 ± 0.32	4.74 ± 0.32	4,178	0.124

Nota: Valores expresados como media ± desviación estándar (n = 30). Las diferencias entre tratamientos fueron evaluadas mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$).

No obstante, al analizar la dosis como variable continua, sí se observó una tendencia significativa a la reducción de los vibrios totales. Estos resultados indican que el incremento de la dosis estuvo asociado con una tendencia de disminución en la carga de vibrios totales, aunque la magnitud del efecto fue moderada y explicó únicamente el 7.9 % de la variabilidad observada.

La matriz de correlación de Spearman demostró que el aditivo acidificante actúa de forma dirigida y selectiva, ejerciendo una influencia de reducción estadísticamente significativa y de mayor magnitud sobre la carga de **Vibrios totales** (-0.3), mientras que mantiene un impacto periférico o insignificante sobre el género *Pseudomonas* (-0.17).

Figura 26: Matriz de correlación de Spearman entre tres variables del estudio



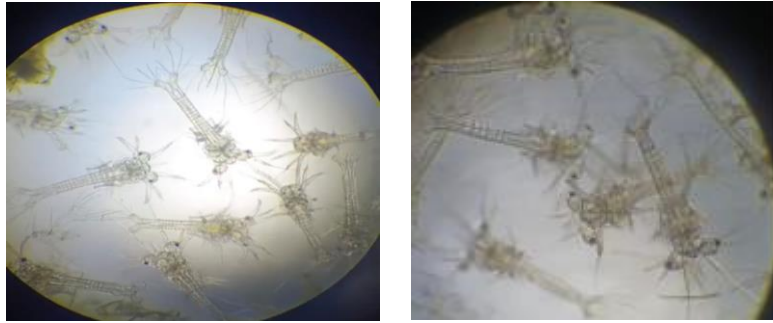
Nota: Matriz de correlación de Spearman entre tres variables del estudio: la Dosis del aditivo acidificante, los Vibrios totales y las bacterias *Pseudomonas* spp.

8.11. Salud larvaria

Zoea

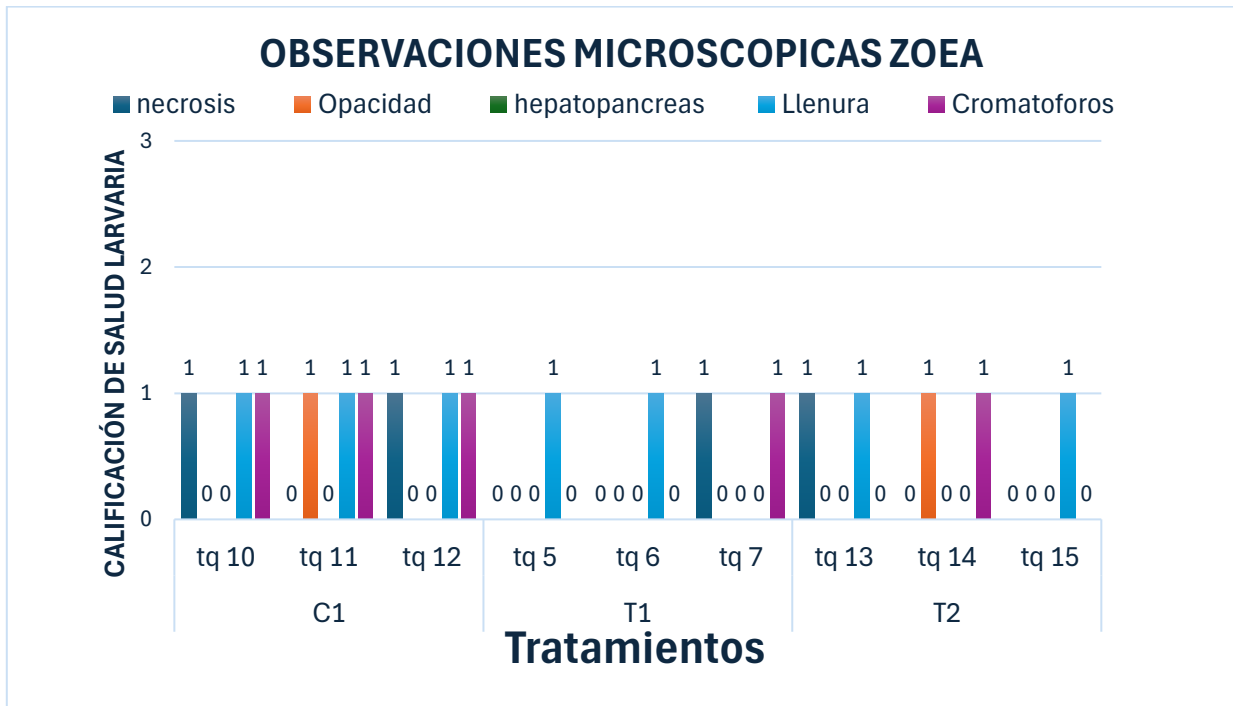
Para las observaciones microscópicas se utilizó una tabla de categorización, donde los niveles de severidad de 0 como leve y 4 como grave, la necrosis, opacidad, color de hepatopáncreas, llenura y cromatóforos en el estadio zoea de la corrida 2 se puede observar que tanto los controles como los tratamientos presentan un grado óptimo de color de hepatopáncreas, buena asimilación, cabe destacar que la llenura del intestino presenta un grado de severidad debido a deficiencias de microalgas, no obstante los tratamientos presenta el grado óptimo de salud larvaria para ese estadio.

Figura 27: Observación microscópica de salud larvaria en estadio Zoea.



Nota: la imagen de la derecha presenta una zoea con opacidad y un índice bajo en lípidos, la imagen de la izquierda presenta una alta asimilación de alimento, no presenta necrosis y opacidad.

Figura 28: Calificación de grados de severidad de salud larvaria en estadio Zoea.

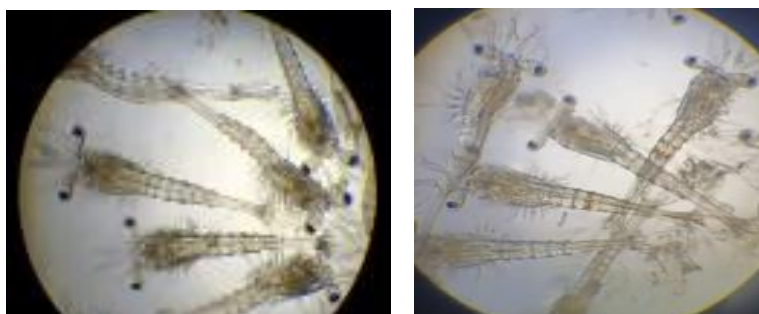


Nota: Representación gráfica de los valores promedios de índice de salud larvaria en segundo ciclo productivo correspondientes a controles como T1 y T2.

Mysis

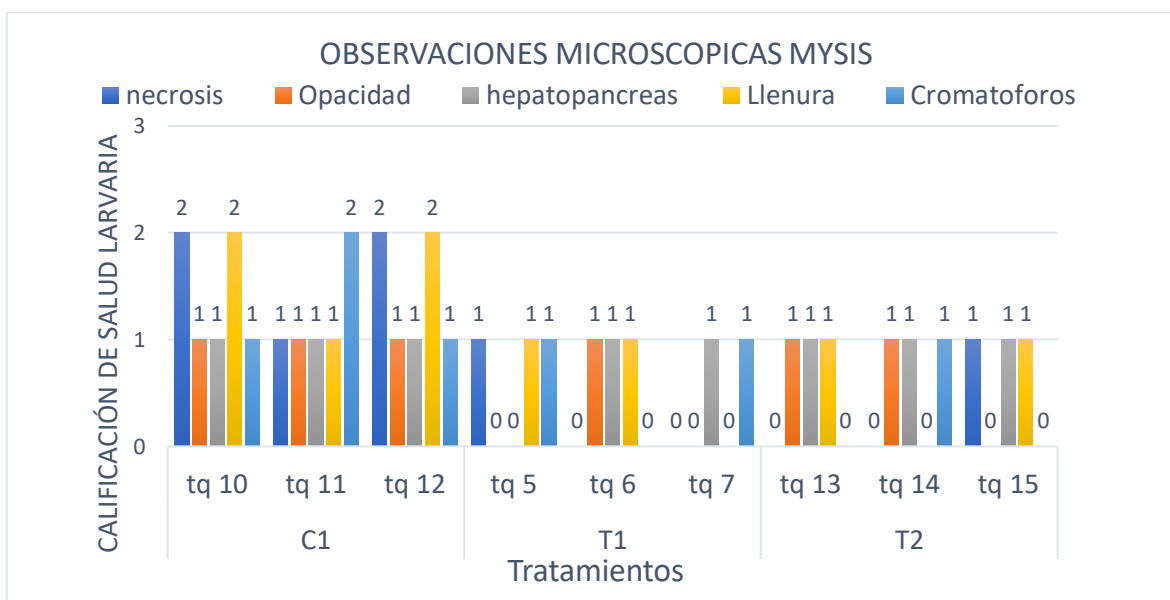
En este estadio siguiente se vio un incremento en el grado de severidad principalmente de los controles donde la llenura y la necrosis llegaron al grado 2, lo que es indicativo de una sintomatología de deficiencias y altas cargas bacterianas, sin embargo, tanto la opacidad como el color de hepatopáncreas se mantuvieron dentro del rango óptimo, además, los tratamientos mantuvieron niveles bajos a comparación de los controles, con un grado de severidad no mayor a 0 y 1 lo que se considera un salud optima dentro de un sistema de cultivo.

Figura 29: Observación microscópica de salud larvaria en estadio Mysis.



Nota: la imagen de la derecha presenta una Mysis con necrosis muscular y opacidad, además, la presencia de cromatóforos y baja densidad de lípidos. La imagen de la izquierda presenta una alta asimilación de alimento, no presenta necrosis y un buen índice de lípidos

Figura 30: Calificación de grados de severidad de salud larvaria en estadio Mysis

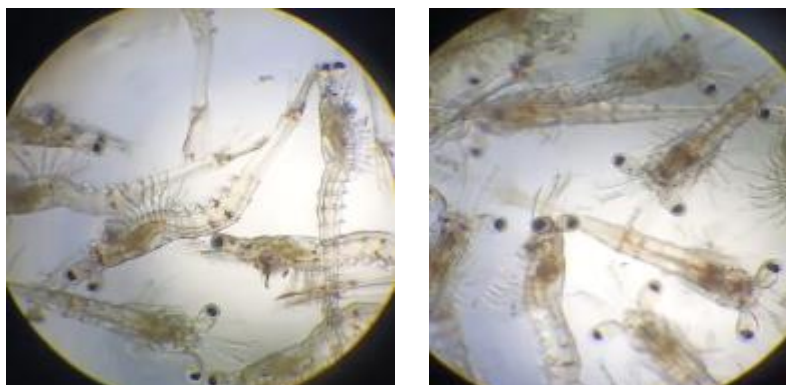


Nota: Representación gráfica de los valores promedios de índice de salud larvaria en ciclo productivo correspondientes a controles como T1 y T2.

Postlarva

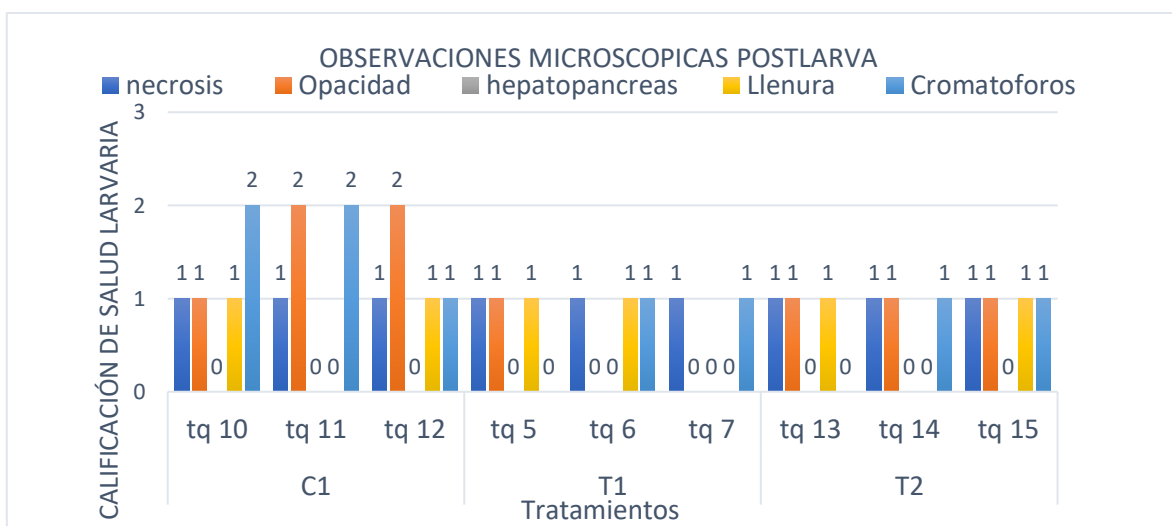
Finalmente, durante los estadios finales se observó que los tratamientos conservaban los niveles de salud larvaria dentro de rango de 1, a diferencia de los controles donde se observó que la necrosis, opacidad alcanzaron el rango de severidad de 2 en 2 de los 3 controles, además una presencia leve de cromatóforos al igual que en los tratamientos lo que se pudo presentar por un estrés osmótico durante recambios de agua o variaciones de temperatura.

Figura 31: Observación microscópica de salud larvaria en estadio PostLarva.



Nota: La imagen de la derecha (tratamiento) muestra una observación con un índice bajo de cromatóforos, necrosis, sin embargo, presenta un buen índice de lípidos y llenura óptimos para un buen desarrollo, la imagen de la izquierda (control) presenta un índice de salud elevado con necrosis y cromatóforos dilatados en un 45% de la morfología de las larvas.

Figura 32: Calificación de grados de severidad de salud larvaria en estadio postlarva



Nota: Representación gráfica de los valores promedios de índice de salud larvaria en ciclo productivo correspondientes a controles como T1 y T2.

Estadísticamente, la condición sanitaria de las postlarvas de *Penaeus vannamei* se determinó de forma integral mediante el Índice de Salud Larvaria (ISL), el cual consolidó las evaluaciones microscópicas de necrosis branquial, opacidad muscular, estado del hepatopáncreas, llenura intestinal y distribución de cromatóforos.

Tabla 4 :Valores de desviación estándar de salud larvaria

Tratamiento	n	Media $\pm$ DE	Mediana	Mín.	Máx.	Grupo
Control	162	5.26 $\pm$ 2.36	6	0	12	B
T1	162	3.06 $\pm$ 1.74	3	0	11	A
T2	162	3.16 $\pm$ 1.81	3	0	8	A

Nota: Datos obtenidos de la estadística de PERMANOVA con las medias estándar debido a la multivariabilidad, determinando una distribución no normal ($p < 0.001$).

Los datos fueron sometidos inicialmente a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, determinando una distribución no normal ($p < 0.001$). El análisis de Kruskal-Wallis demostró la existencia de diferencias altamente significativas en el ISL entre los grupos evaluados ($H = 98.66$; $p < 0.001$).

El grupo Control registró el puntaje promedio de daño más elevado (5.26 ± 2.36), ubicándose de forma aislada en el grupo estadístico b según las comparaciones múltiples post-hoc ($p < 0.05$). Por el contrario, las larvas tratadas con el aditivo acidificante comercial experimentaron una mejora radical en su estatus sanitario, reflejada en disminuciones drásticas del índice para T1 (3.06 ± 1.74) y T2 (3.16 ± 1.81), compartiendo ambas el grupo estadístico a.

Las pruebas de contraste por parejas confirmaron diferencias significativas entre el Control y ambos tratamientos acidificados ($p < 0.0001$), mientras que la diferencia entre T1 y T2 no fue significativa ($p = 0.717$).

De manera complementaria, el análisis PERMANOVA ratificó un efecto contundente y simultáneo de los tratamientos sobre el conjunto de las cinco variables macro y microscópicas de salud ($F = 29.42$; $p < 0.001$).

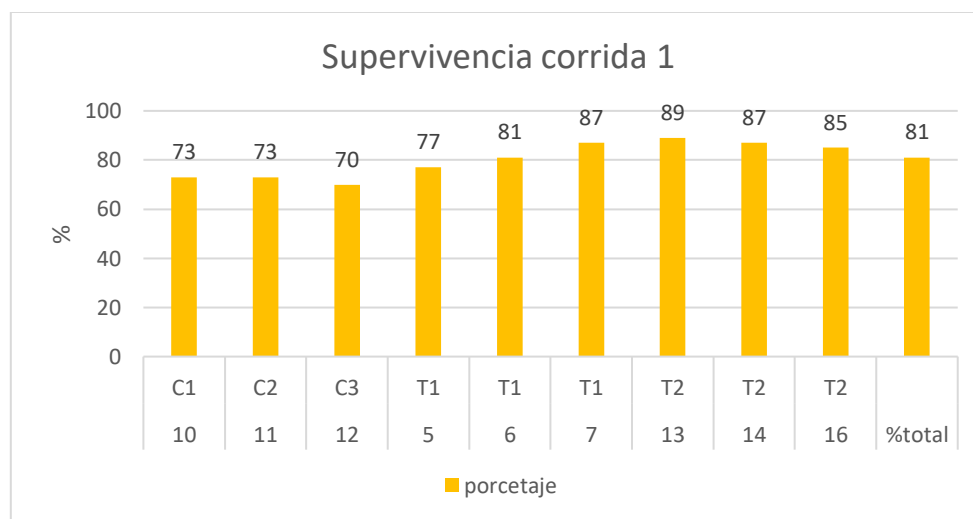
El modelo determinó un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.571$, lo que demuestra que la inclusión del aditivo acidificante explica el 57.1% de la variabilidad total en la condición de salud de los organismos del cultivo, manifestando un impacto biológico de gran importancia.

8.12. Supervivencia

Corrida 1

La supervivencia durante el primer ciclo productivo mostró una diferencia significativa con respecto a los controles: el T1, con un promedio de 85%, lo que representa un 13 % más que los controles; y el T2, con un promedio de 84. En total, la producción con respecto a los controles fue de 12,5% más de lo normal, con una supervivencia total de 81%.

Figura 32: Supervivencia final de cada tratamiento durante la primera corrida



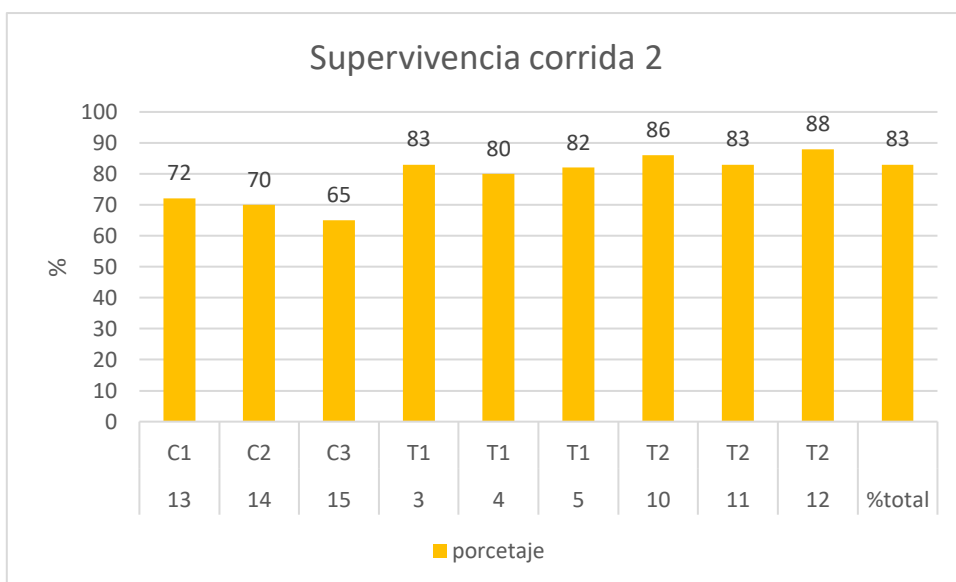
Nota: La gráfica representa la supervivencia durante el primer ciclo productivo donde en promedio la supervivencia aumentó en un 10 % en comparación a los controles.

Corrida 2

La supervivencia durante el segundo ciclo productivo mostró una diferencia significativa con respecto a los controles, que tuvo un total de 69 % : el T1, con un promedio de 81%, lo que representa un 12 % más que los controles; y el T2, con un promedio de 84%.

En total, la producción con respecto a los controles fue del 12 % más de lo normal, con una supervivencia total del 81%. Respectivamente, las variaciones de parámetros físico-químicos, densidad y otros factores microbiológicos pueden afectar directamente la supervivencia final.

Figura 33: Supervivencia final de cada tratamiento durante el ciclo de producción 2

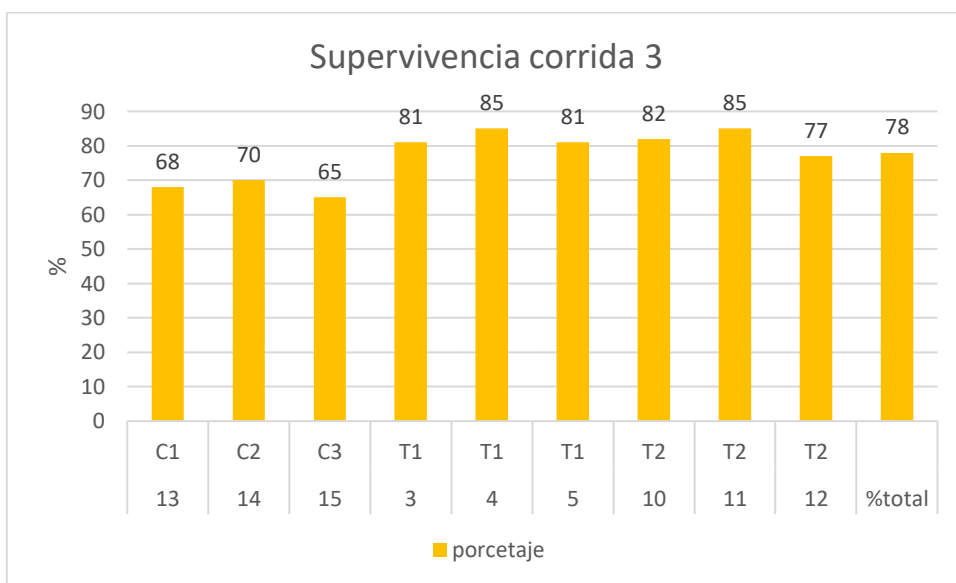


Nota: La gráfica representa la supervivencia durante el segundo ciclo productivo donde en promedio la supervivencia aumentó en un 12 % en comparación a los controles.

Corrida 3

La supervivencia durante el primer ciclo productivo mostró una diferencia significativa con respecto a los controles: el T1, con un promedio de 82%, lo que representa un 15% más que los controles; y el T2, con un promedio de 80% . En total, la producción con respecto a los controles fue 14% más de lo normal, con una supervivencia total de 81%. Ese aumento se atribuye al manejo, la calidad del agua y los acidificantes usados en este ensayo.

Figura 34: Supervivencia final de cada tratamiento del tercer ciclo productivo



Nota: La gráfica representa la supervivencia durante el tercer ciclo productivo donde en promedio la supervivencia aumentó en un 12 % en comparación a los controles.

Estadísticamente, el rendimiento zootécnico del aditivo acidificante se determinó mediante el cálculo del porcentaje de supervivencia al finalizar el ciclo productivo de 18 días en cada uno de los tres ciclos evaluados (febrero, marzo y abril).

El análisis de varianza (ANOVA) de dos vías demostró la existencia de diferencias altamente significativas en la supervivencia global provocadas por el factor de tratamiento ($F = 62.95$; $p < 0.001$).

Las postlarvas del grupo **Control** registraron el promedio de supervivencia más bajo del estudio con un 69.56 ± 3.05 , ubicándose en el grupo estadístico *b* según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p = 0.05$). Por el contrario, los organismos expuestos al aditivo orgánico

incrementaron notablemente su supervivencia, alcanzando un 81.89 ± 2.89 en la dosis baja (**T1**) y un 84.67 ± 3.64 en la dosis alta (**T2**), compartiendo ambos tratamientos el grupo estadístico *a*.

En términos productivos, esto representó un porcentaje de mejora neta del 17,7% para T1 y del 21,7% para T2 en comparación con el control. La prueba de Tukey confirmó que la diferencia del 2.78% en la supervivencia entre T1 y T2 no fue estadísticamente significativa ($p = 0.152$). Esto confirma estadísticamente que el beneficio profiláctico del aditivo acidificante sobre la supervivencia es consistente y reproducible a lo largo del tiempo.

8.13. Parámetros físicos químicos

Con el objetivo de garantizar un desarrollo adecuado y evitar que parámetros como CA, k, Mg, alcalinidad, salinidad, pH y temperatura afecten significativamente las condiciones del cultivo, se monitorea constantemente; además, se lleva un control aleatorio del balance iónico en los estadios más susceptibles en el ciclo de cultivo.

Tabla 5 tabulación de parámetros fisicoquímicos de agua durante los ciclos productivos

Tratamiento	Calcio	Potasio	Magnesio	Alcalinidad	Amonio
C1	90	310	1500	110	1
C2	100	300	1400	100	0.95
C3	90	325	1600	98	1
T1	100	3100	1650	95	0.95
T1	102	325	1300	100	0.80
T1	110	290	1350	80	0.75
T2	100	350	1400	95	0.80
T2	120	340	1600	90	1
T2	100	310	1400	100	0.90

Nota : parámetros fisicoquímicos del agua registrados durante los muestreos con el YSI 900.

CAPITULO V

9. DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9.1. DISCUSIÓN

La evaluación exhaustiva del uso de un aditivo acidificante en el cultivo larvario de *Penaeus vannamei* revela una respuesta biológica y productiva favorable, sustentada en un control microbiológico selectivo, una mejora significativa en la integridad de los tejidos y un incremento sustancial en la supervivencia de los organismos.

La ausencia de diferencias significativas globales mediante la prueba de Kruskal-Wallis en la carga bacteriana discreta concuerda con lo reportado por Domínguez y Vera (2022), quienes señalan que la microbiota en la larvicultura intensiva es sumamente dinámica y fluctuante debido a factores externos como la acumulación de materia orgánica y las tasas de recambio de agua. No obstante, el hallazgo de una correlación negativa moderada y estadísticamente significativa ($p = -0.295$; $p = 0.005$) entre la dosis continua del aditivo y la carga de *Vibrios totales* demuestra que el compuesto ejerce una presión profiláctica constante y acumulativa en el tiempo.

Al contrastar estos resultados con el uso de aceites esenciales (como el timol, el carvacrol o el extracto de orégano), que constituyen otra alternativa profiláctica común en la acuicultura, surgen diferencias mecanísticas críticas. Los aceites esenciales actúan mediante la alteración hidrofóbica generalizada de la pared celular bacteriana, lo que a menudo genera una acción bactericida de amplio espectro no selectiva. Esta falta de especificidad puede provocar picos de mortalidad en la microbiota benéfica del agua y del tracto digestivo del camarón, generando disbiosis e inestabilidad en los sistemas larvarios.

Por el contrario, el aditivo acidificante comercial demostró una marcada especificidad de acción, logrando mitigar el género *Vibrio* pero manteniendo una neutralidad biológica sobre *Pseudomonas spp.* $P = -0.17$; $p > 0.05$. Esta selectividad responde a las diferencias en los canales de porinas y sistemas de bombeo por eflujo de la membrana de las

Pseudomonas , las cuales toleran las variaciones de pH inducidas por el producto, permitiendo que el aditivo funcione como un modulador microbiológico dirigido en lugar de un esterilizador indiscriminado del medio acuático (Hara-Kudo, 2001; Canellas, 2023).

Un hallazgo fundamental de esta investigación radica en la composición química del aditivo evaluado, el cual basa su éxito en una mezcla sinérgica de ácidos grasos de cadena corta y media (ácido butírico 9%, ácido heptanoico 8%, ácido propiónico 5%, junto con trazas de ácidos cáprico, caprílico y láurico). La literatura científica demuestra que el uso de un solo ácido orgánico aislado suele requerir dosis sumamente elevadas para igualar la eficacia de una matriz combinada, lo que eleva el riesgo de palatabilidad negativa o de caídas drásticas en el pH del agua que estresen a las larvas (Boyd & Tucker, 2021).

La complementariedad de esta formulación aprovecha los diferentes pesos moleculares y puntos de disociación (pKa) de cada componente: mientras los ácidos de cadena corta (propiónico y butírico) reducen eficazmente el pH citoplasmático de los *Vibrios* y aportan energía directamente al sistema intestinal, los ácidos de cadena media (cáprico y láurico) desestabilizan las bicapas lipídicas de las bacterias con mayor facilidad, potenciando el efecto bactericida a dosis comerciales sumamente bajas.

Este sinergismo molecular explica la mejora radical observada en el Índice de Salud Larvaria (ISL), donde los tratamientos redujeron el puntaje de daño tisular de un 5.2 (Control) a niveles óptimos de 3.06 (T1) y 3.16 (T2) ($p < 0.001$). Al inhibir de forma coordinada la colonización de toxinas patógenas, se evitó la descamación celular gastrointestinal (síndrome de bolitas) y la inflamación de los túbulos hepatopancreáticos.

La eubiosis promovida por esta mejor combinación de ácidos grasos estimuló la asimilación nutricional del alimento, reflejada microscópicamente en una excelente llenura intestinal y una alta concentración de vacuolas de lípidos en el hepatopáncreas (Mendoza, 2024). El hecho de que el análisis multivariado PERMANOVA determinara que el aditivo explica el 57.1 % de la variabilidad total de la salud ($R^2 = 0.571$) convalida que la

protección histológica larvaria está fuertemente gobernada por la calidad y el diseño molecular de la estrategia profiláctica aplicada.

El impacto zootécnico terminal del bioensayo se evidenció en el incremento sustancial de la supervivencia final, elevándose desde un 69.56 % en el grupo Control hasta un 81.89 % en T1 y un 84.67 % en T2 ($p < 0.001$). Este aumento neto de hasta el 21.7 % confirma que la protección tisular y el control microbiológico dirigido se traducen de forma directa en el rescate de biomasa comercial. La robustez temporal de este beneficio fue ratificada mediante el ANOVA de dos vías, el cual no detectó una interacción significativa entre los ciclos mensuales de cultivo y los tratamientos ($p = 0.394$), demostrando que el aditivo actúa como un escudo profiláctico estable frente a las fluctuaciones ambientales de febrero, marzo y abril (Velásquez et al., 2023).

El solapamiento estadístico determinado por la prueba de Tukey entre la supervivencia de T1 y T2 ($p = 0.152$), en sintonía con la similitud de sus nubes de ordenación multivariada en el ISL ($p = 0.717$), revela la existencia de un "efecto techo" biológico. Una vez que la combinación óptima de ácidos grasos satura los receptores intestinales y estabiliza la microbiota en el agua, la duplicación de la dosis no genera ventajas zootécnicas adicionales.

Por lo tanto, bajo un estricto criterio de eficiencia económica y operativa, la dosis menor (T1) se consolida como la alternativa idónea para el sector camaronero. Su aplicación permite a los laboratorios de larvicultura alcanzar el máximo estándar de protección sanitaria y rendimiento productivo, optimizando la estructura de costos al evitar el gasto innecesario de sobredosificación de insumos profilácticos.

9.2. CONCLUSIONES

Los resultados demostraron que la aplicación del aditivo acidificante comercial ejerce un control microbiológico selectivo e inversamente proporcional sobre la carga de vibrios totales. Aunque el análisis por bloques fijos de tratamientos no reflejó diferencias estadísticas categóricas debidas a la alta variabilidad, el modelado como variable continua mediante la correlación de Spearman demostró una reducción real y significativa de la población de vibrios a medida que se incrementó la dosificación del producto ($p = -0.295$; $p = 0.005$). La importancia biológica de este hallazgo radica en la especificidad del aditivo, el cual demostró una neutralidad o tolerancia estadística frente al género *Pseudomonas spp.* Esto valida su aplicación como un modulador profiláctico dirigido, capaz de mitigar el crecimiento sin afectar la microbiota benéfica.

Se determinó que la inclusión de acidificante optimiza de forma drástica y estadísticamente significativa la salud integral. A través de evaluaciones microscópicas parametrizadas, se comprobó que el uso del aditivo redujo de manera contundente el Índice de Salud Larvaria (ISL) desde un puntaje promedio de daño de 5.26 en el grupo Control hasta valores óptimos cercanos a 3.10 en los tanques tratados. Se confirmó que la estrategia profiláctica fue responsable del 57.1 % de los cambios y mejoras morfológicas simultáneas en los organismos ($F = 29.42$; $p < 0.001$), impactando positivamente en la reducción de necrosis branquial, opacidad muscular y garantizando un excelente llenado intestinal y concentración de lípidos en el hepatopáncreas.

Se demostró que el aditivo acidificante comercial incrementa de forma rotunda, constante y reproducible en el tiempo la supervivencia final de las postlarvas de *Penaeus vannamei*. El análisis de varianza (ANOVA de dos vías) ratificó un efecto altamente significativo del factor tratamiento ($F = 62.95$; $p < 0.001$), elevando la supervivencia desde un 69.56% en el grupo Control hasta un 81.89% en la dosis baja (T1) y un 84.67% en la dosis alta (T2). Esto representó un porcentaje de mejora neta del 17,7% y 21,7% respectivamente. Asimismo, la ausencia de

interacción significativa entre los ciclos de cultivo y los tratamientos ($p = 0.394$) comprobó la estabilidad del producto frente a las fluctuaciones ambientales de los meses evaluados.

9.3. RECOMENDACIONES

Con el propósito de robustecer el control profiláctico y potenciar la sostenibilidad ecológica en la producción acuícola, se sugiere investigar la interacción de la mezcla actual de ácidos grasos con otras alternativas terapéuticas en futuros ensayos. Específicamente, se recomienda evaluar el empleo conjunto de este aditivo acidificante comercial con aceites esenciales para caracterizar si existe una acción sinérgica multimodal sobre la carga de *Vibrios totales*. Esta línea de investigación permitiría optimizar las dosis de aplicación y diseñar protocolos específicos para la mitigación selectiva de patógenos sin alterar la microbiota benéfica circundante.

Asimismo, se considera fundamental extender la administración de esta combinación de antioxidantes de corto y mediano plazo hacia fases posteriores del ciclo productivo del camarón, tales como las etapas de precría y engorde en piscinas. Ello permitirá examinar detalladamente la persistencia del efecto bacteriostático del producto a largo plazo y la respuesta adaptativa del sistema inmune y digestivo de los organismos frente al aditivo. La continuidad de este manejo preventivo en estadios avanzados del desarrollo de *Penaeus vannamei* aportará información valiosa sobre la estabilidad de la supervivencia frente a las fluctuaciones ambientales típicas de los sistemas de cultivo comerciales.

Por otra parte, se recomienda ensayar con variaciones en las concentraciones de los componentes de la matriz del aditivo (ácidos butírico, propiónico y láurico) en escenarios que simulen desafíos patógenos controlados frente a cepas virulentas latentes como *Vibrio parahaemolyticus*. Analizar las tendencias de la microbiota y del Índice de Salud Larvaria bajo diferentes densidades de siembra y perfiles físico-químicos del agua facilitará la validación de la

consistencia, versatilidad y repetibilidad de la estrategia profiláctica ensayada, simplificando su transferencia tecnológica directa a los laboratorios de larvicultura de la región.

10. Bibliografías

- Acosta Espinosa, R. E. (2016). Análisis del sector de larvicultura del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* sp. en el Ecuador; énfasis en el mercado de insumos y comportamientos del sector (Escuela Superior Politécnica del Litoral).
- Alvarado, M. A. (2024). Uso de probióticos a base de *Bacillus* spp. para la degradación de materia orgánica en sistemas intensivos de cultivo de camarón (Trabajo de integración curricular). Universidad Estatal Península de Santa Elena, La Libertad, Ecuador.
- Anzoátegui, J. R. (2022). Manual de procedimientos estandarizados para la preparación y dilución de muestras larvarias en acuicultura. Guayaquil: Editorial Acuamar.
- Baque Yoza, K. M. (2024). Evaluación de bacterias probióticas sobre la supervivencia y modulación de la microbiota intestinal de *Penaeus vannamei* (Trabajo de integración curricular). Universidad Estatal Península de Santa Elena, La Libertad, Ecuador.
- BioMérieux. (2018). Manual técnico de interpretación y preparación de agares selectivos de diagnóstico: TCBS y ChromAgar. Lyon: bioMérieux SA.
- Borbor, M. E., & Valdiviezo, J. A. (2024). Avances técnicos y desarrollo de sistemas de bioseguridad en la acuicultura ecuatoriana actual. *Revista Acuicultura del Ecuador*, (142), 18-25.
- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (2021). *Water Quality Management for Shrimp and Fish Aquaculture*. Springer Nature.
- Caja, M. F. (2022). Métodos de vertido en profundidad y diluciones en serie para el conteo microbiológico en sistemas abiertos de larvicultura (Tesis de grado). Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador.
- Cámara Nacional de Acuicultura (CNA). (2023). Reporte anual de patologías, bioseguridad y desafíos biológicos en la larvicultura nacional. CNA: Guayaquil.
- Cámara Nacional de Acuicultura (CNA). (2024). Informe económico del sector camaronero: Producción, divisas y exportaciones globales del Ecuador. CNA: Guayaquil.
- Canellas, A. B. (2023). Interpretación rápida, abundancia y morfología de colonias en agares diferenciales cromogénicos. *Microbiología Acuática Aplicada*, 15(2), 89-97.

- Da Silva, F. J. (2023). Eficiencia de los monoglicéridos y mezclas de ácidos comerciales como alternativa sustentable frente a antibióticos en *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Research & Development*, 14(3), 112-124.
- Domínguez Cruz, A. J., & Vera Lazo, K. E. (2022). Calidad del agua y desarrollo larval de *Litopenaeus vannamei* en tanques para larvicultura con aireación artesanal y manguera microporosa. Universidad Técnica de Machala.
- Escobar, R. H. (2023). Efectos de la vibriosis larvaria prematura en la rentabilidad y producción de las salas de cultivo (Tesis de maestría). Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
- Espinosa, J. M. (2023). Requerimientos nutricionales esenciales y fortalecimiento de la metamorfosis morfológica en las primeras etapas de los peneidos. *Journal of Applied Aquaculture*, 35(1), 45-58.
- Espinosa, R. A. (2016). Procesos especializados de larvicultura, manejo de densidades y control de la calidad microbiológica del agua. Editorial Universitaria.
- Forbes Ecuador. (2025, marzo). El impacto social y económico de la camaricultura y generación de empleo en las zonas rurales costeras. *Forbes*, 34-37.
- Franco Borbor, S. A. (2024). Análisis de la evolución de las exportaciones ecuatorianas de camarón blanco *Penaeus vannamei* al mercado chino en el período 2019-2023 (Universidad de Guayaquil).
- Glackin, T. P. (2024). Chromogenic media optimization and colorimetric differentiation for identification of marine bacterial pathogens. *Marine Biotechnology*, 26(2), 201-214.
- Gómez-Gil, B., Roque, A., & Guerra-Flores, A. L. (1998). Use of TCBS agar and ChromAgar Vibrio for the differentiation of sucrose-positive and sucrose-negative vibrios. *Letters in Applied Microbiology*, 27(5), 292-296.
- González, M. F. (2014). Alternativas profilácticas naturales y sostenibles para el control de la proliferación bacteriana en acuicultura (Tesis doctoral). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
- Hara-Kudo, Y., Nishina, T., & Nakagawa, H. (2001). Improved isolation and counting of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood using chromogenic agar media. *International Journal of Food Microbiology*, 66(3), 165-171.
- Kitani, H. (1996). Morphological development and sensitivity to environmental variables in the naupliar stages of *Penaeus vannamei*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 62(2), 231-239.

- Kitani, H. (2008). Benthic habits, feeding behaviors and physiological changes during transition to postlarva in commercial shrimp. *FAO Aquaculture Newsletter*, 41, 12-15.
- Loqui, R. G. (2021). Análisis de las variables zootécnicas, crecimiento y rendimiento biológico bajo tratamientos profilácticos (Tesis de grado). Universidad Técnica de Machala, Ecuador.
- Marcillo, J. D. (2014). Cronología del desarrollo larvario y subestadios de Nauplio 1 a 5 en laboratorios comerciales (Manual técnico). Hatchery & Breeding Projects.
- MDPI Water. (2024). Variations in physical and chemical parameters and their effect on osmotic stress and survival in marine larvae. *Water*, 16(8), 1045.
- Mejía, L. A. (2018). Manual de bioseguridad, control sanitario e identificación de anomalías morfológicas en la larvicultura camaronera. Guayaquil: Instituto Nacional de Pesca.
- Mendoza, S. P. (2024). Manual metodológico de escalas microscópicas de severidad y evaluación sanitaria del hepatopáncreas en *Penaeus vannamei*. La Libertad: Facultad de Ciencias del Mar, UPSE.
- Mirabent, J., Pérez, L., & Castro, R. (2020). Fórmulas estadísticas y modelos matemáticos para el cálculo de supervivencia final y densidad en la cosecha larvaria. *Revista de Investigaciones Marinas*, 41(2), 54-63.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2009). *vannamei*. Fichas informativas sobre especies acuáticas cultivadas.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2024). Programa de Información sobre Especies Acuáticas Cultivadas: *Litopenaeus vannamei*.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2025). Cambios en el comercio y la producción global de gambas.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2026). Producción global por fuente de producción.
- Pereira, G. J. (2022). Historia, expansión y evolución de la camaronicultura intensiva en las provincias costeras de Ecuador. Guayaquil: Editorial Abad.
- Ponce-Palafox, J. T. (2024). Efecto de la salinidad y la osmorregulación en la metamorfosis óptima de postlarvas de camarón. *Acuicultura Latinoamericana*, 19(1), 33-41.

- Rebelo, D. M. (2023). Mecanismos de lisis celular bacteriana e inactivación enzimática inducidos por la liberación de protones de ácidos de cadena corta. *Journal of Bacteriology & Mycology*, 11(2), 77-84.
- Reuters. (2026). Las ventas de camarón ecuatoriano se recuperan en 2025 y superan a la exportación de petróleo.
- Reyes, V. H. (2018). Análisis de la cadena de valor y comercialización de insumos en el sector de larvicultura ecuatoriano (Tesis de grado). Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- Romano, N. (2015). Organic acids and their salts in aquaculture feeds: Dietary effects on health, growth, nutrient digestibility, and disease resistance. *Aquaculture Nutrition*, 21(6), 723-738.
- Samocha, T. M., et al. (2024). Gestión de la calidad del agua en criaderos intensivos de gambas. *Ingeniería en acuicultura*.
- Sánchez Méndez, D. C. (2022). Enfermedades que afectaron la producción de camarón y análisis de las exportaciones de camarón en el Ecuador (Universidad Estatal Península de Santa Elena).
- Sánchez, F. A. (2022). Uso de dietas balanceadas, microalgas y suplementos funcionales en la resiliencia del sistema inmune larvario. Machala: UTMACH.
- Suneetha, K. (2024). Thermal variation impacts on the metabolism, feed consumption and survival rate of *Penaeus vannamei* postlarvae. *Journal of Thermal Biology*, 119, 103-112.
- Tinh, N. T., Dierckens, K., Sorgeloos, P., & Bossier, P. (2008). Internal microbiota dynamics and bacterial management in intensive shrimp hatcheries. *Aquaculture*, 276(1-4), 1-16.
- Tirapé, A. M. (2015). Efecto de los aditivos acidificantes sobre los parámetros de conversión alimenticia diaria en el camarón blanco. ESPOL, Guayaquil.
- Velásquez López, P. C., Solórzano Reyes, F., Ochoa Pereira, P. M., Solano Motoche, G. W., Quizhpe Cordero, P., & Guillén Añasco, R. M. (2023). Caracterización de la calidad del agua durante el cultivo del camarón *Litopenaeus vannamei* con agua dulce en el sur del Ecuador.
- Viacís, M. J. (2023). Prevalencia, sintomatología y etiología del síndrome de descamación celular gastrointestinal (síndrome de bolitas) en laboratorios de Santa Elena (Tesis de grado). Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador.
- Viotto, G. L. (2024). Synergistic application of short and medium-chain fatty acids as sustainable antibiotic replacers in larval rearing systems. *Marine Environmental Research*, 194, 106-115.

11. ANEXOS

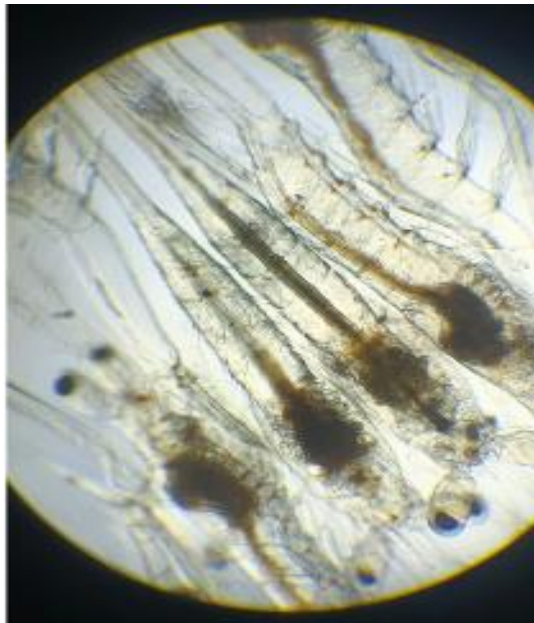
Anexo 1

Indicativo de salud larvaria “opacidad en estadio Z2”



Anexo 2

Salud larvaria “indicativo de llenura en un 94 % “



Anexo 3

Infraestructura del laboratorio donde se llevó a cabo el bioensayo



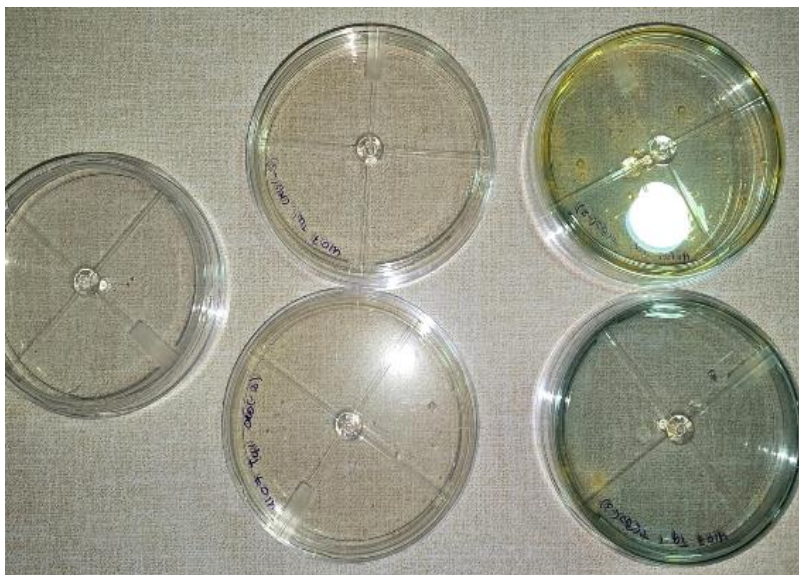
Anexo 4

Aclimatación de los organismos en cada tanque de cultivo



Anexo 5

Placas de siembra de agar TCBS, CENTRIMIDE Y CHROMOAGAR



Anexo 6

Siembra de organismos por parte del personal operativo

